

**Projektowanie, synteza i ocena nowych związków o potencjalnym działaniu na choroby  
ośrodkowego układu nerwowego z aktywnością wobec transportera serotoniny,  
receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i innych celów molekularnych**



**Dr n. farm. Martyna Zofia Wróbel**

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wydział Farmaceutyczny

Katedra i Zakład Technologii Leków i Biotechnologii

ul. Banacha 1 02-097 Warszawa

Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych do wniosku o nadanie  
stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie  
nauki farmaceutyczne

**Warszawa 2025**

## Spis treści

|                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.....                                             | 3  |
| 2. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH.....                                                                                                           | 3  |
| 3. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY Z DNIA 20 LIPCA 2018 R. PRAWO O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM I NAUCE.....                                                             | 4  |
| 3.1 Tytuł osiągnięcia naukowego.....                                                                                                                                                                 | 4  |
| 3.2 Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego .....                                                                                                                                 | 4  |
| 3.3 Cel naukowy oraz opis osiągniętych wyników .....                                                                                                                                                 | 7  |
| 3.3.1 Wprowadzenie.....                                                                                                                                                                              | 7  |
| 3.3.1.1 Rola układu serotoninergetycznego w depresji.....                                                                                                                                            | 7  |
| 3.3.1.2 Nowe kierunki projektowania leków przeciwdepresyjnych.....                                                                                                                                   | 8  |
| 3.3.2 Cel naukowy.....                                                                                                                                                                               | 12 |
| 3.3.3 Omówienie wyników .....                                                                                                                                                                        | 12 |
| 3.3.4 Podsumowanie oraz wpływ uzyskanych wyników badań na rozwój dyscypliny: nauki farmaceutyczne.....                                                                                               | 47 |
| 3.4 Dodatkowe osiągnięcie naukowe w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.....                                                                                                                            | 48 |
| 3.4.1 Badania nad nowymi związkami o potencjalnym działaniu antypsychotycznym w grupie pochodnych 3β-aminotropanu.....                                                                               | 48 |
| 3.4.2 Synteza i ocena biologicznej aktywności przeciwpyschotycznej pochodnych N-[ω-(4-podstawionopiperazyn-1-ylo)alkilo]-1H-indazol-3-karboksamidu.....                                              | 52 |
| 4. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ. .... | 55 |
| 4.1 Aktywność naukowa realizowana we współpracy z innymi uczelniami i instytucjami naukowymi w szczególności zagranicznymi.....                                                                      | 55 |
| 4.2 Staże naukowe.....                                                                                                                                                                               | 61 |
| 4.3 Projekty badawcze.....                                                                                                                                                                           | 62 |
| 4.4 Współpraca naukowa z innymi jednostkami potwierdzona publikacjami i patentami.....                                                                                                               | 63 |
| 4.5 Wykaz wystąpień na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych .....                                                                                                                  | 66 |
| 5. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.....                                                                                             | 67 |
| 5.1 Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne .....                                                                                                                                                    | 67 |
| 5.2 Osiągnięcia popularyzujące naukę .....                                                                                                                                                           | 70 |
| 6. OPRÓCZ KWESTII WYMIENIONYCH W PKT. 1-6, WNIOSKODAWCA MOŻE PODAĆ INNE INFORMACJE, WAŻNE Z JEGO PUNKTU WIDZENIA, DOTYCZĄCE JEGO KARIERY ZAWODOWEJ. ....                                             | 71 |
| 7. BIBLIOGRAFIA.....                                                                                                                                                                                 | 72 |

1. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.

Doktor nauk farmaceutycznych

Wydział Farmaceutyczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 30 września 2015, tytuł pracy doktorskiej: „*Synteza nowych pochodnych 3-(1H-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu, związków o podwójnej wiązalności do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i transportera serotoniny, potencjalnych antydepresantów.*” – praca wyróżniona *Summa cum laude*, promotor: prof. dr hab. n. farm. Franciszek Herold

Magister farmacji

Wydział Farmaceutyczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 10 września 2008, tytuł pracy magisterskiej: „*Analiza porównawcza frakcji polisacharydowych izolowanych z grzybni Lentinula edodes z hodowli w głębnej na podłożu wzbogaconym w selen.*”, promotor: prof. dr hab. n. farm. Jadwiga Turło

2. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH.

|                   |                                                                                                                 |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10.2012 – 06.2013 | Katedra i Zakład Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej Warszawski Uniwersytet Medyczny<br>ASYSTENT |
| 01.2014 – 02.2016 | Katedra i Zakład Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej Warszawski Uniwersytet Medyczny<br>ASYSTENT |
| Od 02.2016        | Katedra i Zakład Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej Warszawski Uniwersytet Medyczny<br>ADIUNKT  |

### 3. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY Z DNIA 20 LIPCA 2018 R. PRAWO O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM I NAUCE.

#### 3.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

*Jako osiągnięcie naukowe, wynikające z art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.) wskazuję monotematyczny cykl 6 publikacji naukowych pt.*

**„Projektowanie, synteza i ocena nowych związków o potencjalnym działaniu na choroby ośrodkowego układu nerwowego z aktywnością wobec transportera serotoniny, receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i innych celów molekularnych”.**

#### 3.2 Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Zgodnie z analizą bibliometryczną łączna punktacja MNiSW prezentowanego cyklu składającego się z 6 prac wynosi 600 pkt., a sumaryczny współczynnik Impact Factor 27,582 pkt. We wszystkich pracach jestem pierwszym oraz/lub korespondencyjnym autorem.

##### H1. Novel 4-aryl-pyrido[1,2-c]pyrimidines with dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> activity. Part 4

Chodkowski, A.; **Wróbel, M.Z.\***; Turło, J.; Kleps, J.; Siwek, A.; Nowak, G.; Belka, M.; Bączek, T.; Mazurek, A.P.; Herold, F.

European Journal of Medicinal Chemistry, 2015, DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.10.069

3,902 pkt. IF, 40 pkt. MNiSW

Mój udział w badaniach opisanych w tej pracy polegał na współtworzeniu metodologii i koncepcji badań; współprojektowaniu struktur związków, optymalizacji syntezy i jej przeprowadzeniu, potwierdzeniu struktury związków, zebraniu i analizie wyników, przygotowaniu i zredagowaniu manuskryptu publikacji, autor korespondujący.

##### H2. Synthesis and biological evaluation of novel pyrrolidine-2,5-dione derivatives as potential antidepressant agents. Part 1

**Wróbel, M.Z.**; Chodkowski, A.; Herold, F.; Gomółka, A.; Kleps, J.; Mazurek, A.P.; Pluciński, F.; Mazurek, A.; Nowak, G.; Siwek, A.; Stachowicz, K.; Sławińska, A.; Wolak, M.; Szewczyk, B.; Satała, G.; Bojarski, A.J.; Turło, J.

European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.02.033

3,432 pkt. IF, 40 pkt. MNiSW

Mój udział w badaniach opisanych w tej pracy polegał na opracowaniu metodologii i koncepcji badań; kierowaniu i koordynowaniu badań/eksperymentów oraz przeprowadzeniu kluczowych

badan/eksperymentów, w tym zaplanowaniu struktur związków, opracowaniu ścieżek syntezy i jej przeprowadzeniu, potwierdzeniu struktury związków, zebraniu i analizie wyników, przygotowaniu i zredagowaniu manuskryptu publikacji.

H3. Synthesis and biological evaluation of new multi-target 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives with potential antidepressant effect

**Wróbel, M.Z.\***; Chodkowski, A.; Herold, F.; Marciniak, M.; Dawidowski, M.; Siwek, A.; Starowicz, G.; Stachowicz, K.; Szewczyk, B.; Nowak, G.; Belka, M.; Bączek, T.; Satała, G.; Bojarski, A.J.; Turło, J.

European Journal of Medicinal Chemistry, 2019, DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111736

5,573 pkt. IF, 140 pkt. MNiSW

Mój udział w badaniach opisanych w tej pracy polegał na opracowaniu metodologii i koncepcji badań; kierowaniu i koordynowaniu badań/eksperymentów oraz przeprowadzeniu kluczowych badań/eksperymentów, w tym zaplanowaniu struktur związków, opracowaniu ścieżek syntezy i jej przeprowadzeniu, potwierdzeniu struktury związków, zebraniu i analizie wyników, przygotowaniu i zredagowaniu manuskryptu publikacji, autor korespondujący.

H4. Synthesis of new 4-butyl-aryl piperazine-3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives and evaluation for their 5-HT<sub>1A</sub> and D<sub>2</sub> receptor affinity and serotonin transporter inhibition

**Wróbel, M.Z.\***; Chodkowski, A.; Marciniak, M.; Dawidowski, M.; Maksymiuk, A.; Siwek, A.; Nowak, G.; Turło J.

Bioorganic Chemistry, 2020, DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.103662

5,275 pkt. IF, 100 pkt. MNiSW

Mój udział w badaniach opisanych w tej pracy polegał na opracowaniu metodologii i koncepcji badań; kierowaniu i koordynowaniu badań/eksperymentów oraz przeprowadzeniu kluczowych badań/eksperymentów, w tym zaplanowaniu struktur związków, opracowaniu ścieżek syntezy i jej przeprowadzeniu, potwierdzeniu struktury związków, zebraniu i analizie wyników, przygotowaniu i zredagowaniu manuskryptu publikacji, autor korespondujący.

H5. Synthesis and biological evaluation of novel 3-(5-substituted-1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives with a dual affinity for serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor and SERT

**Wróbel, M.Z.** \*; Chodkowski, A.; Dawidowski, M.; Siwek, A.; Stachowicz, K.; Szewczyk, B.; Nowak, G.; Satała, G.; Bojarski, A.J.; Turło, J.

Bioorganic Chemistry, 2023, DOI: 10.1016/j.bioorg.2023.106903

4,500 pkt. IF, 140 pkt. MNiSW

Mój udział w badaniach opisanych w tej pracy polegał na opracowaniu metodologii i koncepcji badań; kierowaniu i koordynowaniu badań/eksperymentów oraz przeprowadzeniu kluczowych badań/eksperymentów, w tym zaplanowaniu struktur związków, opracowaniu ścieżek syntezy i jej przeprowadzeniu, potwierdzeniu struktury związków, zebraniu i analizie wyników, przygotowaniu i zredagowaniu manuskryptu publikacji, autor korespondujący.

H6. Design and synthesis of potential multi-target antidepressants: exploration of 1-(4-(7-azaindole)-3,6-dihydropyridin-1-yl)alkyl-3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives with affinity for the serotonin transporter

**Wróbel, M.Z.** \*; Chodkowski A.; Siwek, A.; Satała, G.; Bojarski, A.J.; Dawidowski, M.

International Journal of Molecular Sciences, 2024, DOI: 10.3390/ijms252011276

4,900 pkt. IF, 140 pkt. MNiSW

Mój udział w badaniach opisanych w tej pracy polegał na opracowaniu metodologii i koncepcji badań; kierowaniu i koordynowaniu badań/eksperymentów oraz przeprowadzeniu kluczowych badań/eksperymentów, w tym zaplanowaniu struktur związków, opracowaniu ścieżek syntezy i jej przeprowadzeniu, potwierdzeniu struktury związków, zebraniu i analizie wyników, przygotowaniu i zredagowaniu manuskryptu publikacji, autor korespondujący.

\* –rola autora korespondencyjnego

### 3.3 Cel naukowy oraz opis osiągniętych wyników

#### 3.3.1 Wprowadzenie

Depresja jest jednym z najpoważniejszych zaburzeń psychicznych naszych czasów. Według Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) na depresję cierpi około 280 milionów osób na całym świecie, co stanowi około 3,8% populacji [1]. Zaburzenie to prowadzi do poważnych konsekwencji zdrowotnych, społecznych i ekonomicznych, w tym do utraty 12 miliardów dni roboczych rocznie, co przekłada się na koszty rzędu 1 biliona dolarów w skali globalnej [1]. Choroba ta cechuje się wysoką złożonością patomechanizmu, obejmującą zaburzenia neuroprzekąźnictwa, zmiany strukturalne w mózgu oraz dysfunkcje procesów neurogenicznych. Mimo dostępności wielu leków przeciwdepresyjnych, w tym najczęściej stosowanych selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (ang. selective serotonin reuptake inhibitor, SSRIs), ich skuteczność pozostawia wiele do życzenia – jedynie około 60–70% pacjentów doświadcza poprawy, a około 30–40% nie reaguje na leczenie farmakologiczne. Dodatkowo, długi okres latencji (zazwyczaj 2–4 tygodnie) stanowi istotne ograniczenie w terapii, szczególnie w przypadkach ciężkich epizodów depresji (ang. major depressive disorder, MDD), co pokazuje konieczność poszukiwania nowych strategii terapeutycznych.

##### 3.3.1.1 Rola układu serotoninergicznego w depresji

Nieprawidłowości w funkcjonowaniu układu serotoninowego (odpowiedzialnego za regulację nastroju, emocji i funkcji poznawczych) są związane z rozwojem różnych zaburzeń psychicznych, takich jak depresja, choroba afektywna dwubiegunowa, zaburzenia lękowe oraz schizofrenia [1,2]. Od momentu zidentyfikowania serotoniny (5-HT) jako neuroprzekąźnika o kluczowym znaczeniu dla ośrodkowego układu nerwowego (OUN), układ serotoninergiczny stał się jednym z głównych celów w badaniach nad patofizjologią tych chorób. Główne strategie terapeutyczne w farmakoterapii depresji koncentrują się na modulacji funkcji transportera serotoniny (SERT) oraz receptorów serotoniny, a szczególnie 5-HT<sub>1A</sub>R.

SERT odgrywa kluczową rolę w regulowaniu poziomu 5-HT w szczelinie synaptycznej poprzez umożliwienie jej wychwytu zwrotnego do neuronów presynaptycznych. Hamowanie SERT prowadzi do wzrostu stężenia 5-HT w synapsach, co nie tylko wzmacnia neurotransmisję serotoninergiczną, ale także pośrednio moduluje szlaki dopaminergiczne.

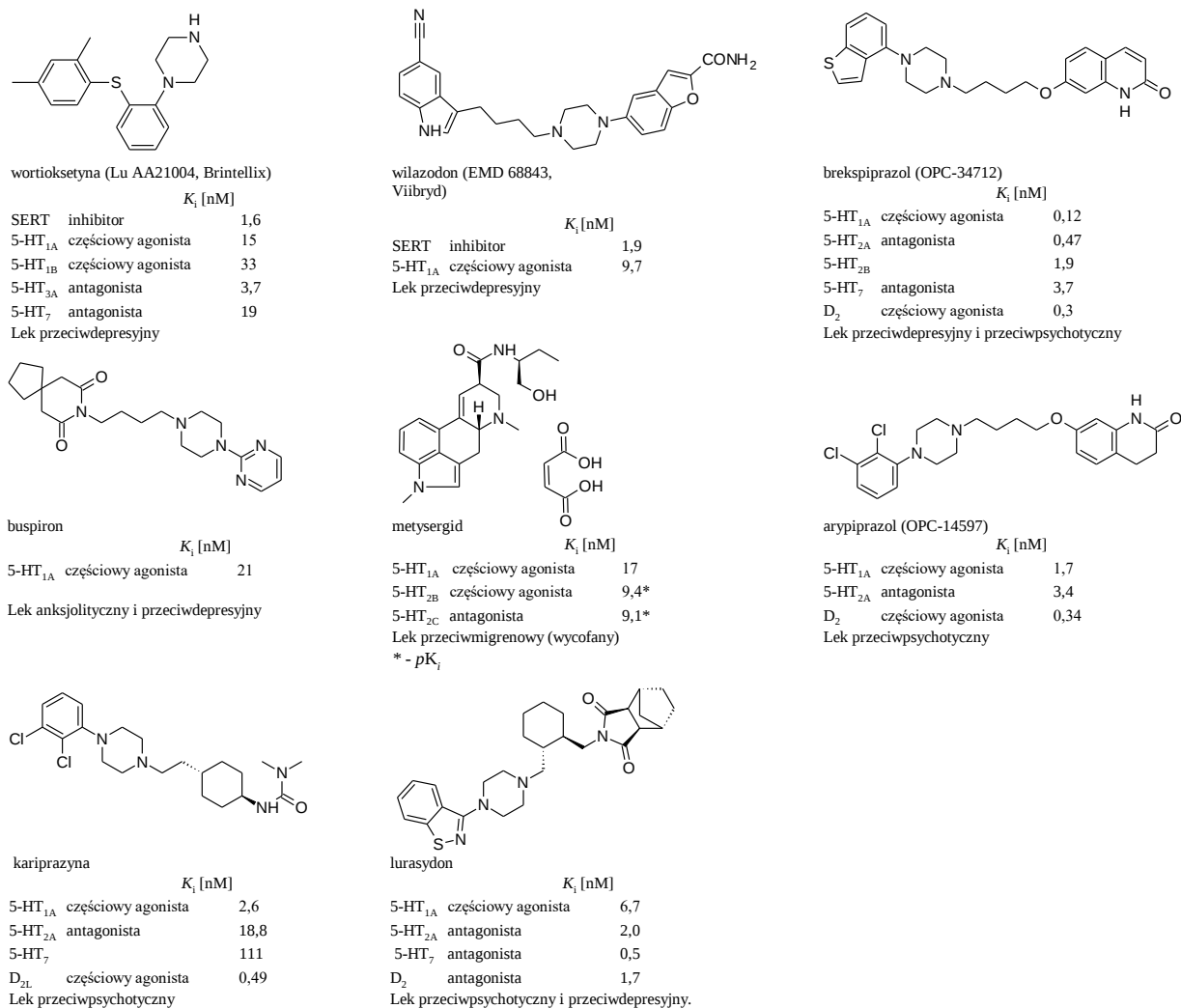
Receptor 5-HT<sub>1A</sub> funkcjonuje jako autoreceptor presynaptyczny w neuronach jąder szwu, gdzie reguluje uwalnianie serotoniny, oraz jako receptor postsynaptyczny, odpowiadający za transmisję serotonergiczną w obszarach korowo-limbicznych. Pobudzenie presynaptycznych autoreceptorów prowadzi do zmniejszenia aktywności układu serotonergicznego, podczas gdy ich desensytyzacja jest kluczowym etapem dla skuteczności terapii przeciwdepresyjnej, odpowiedzialnym za skrócenie czasu latencji.

### 3.3.1.2 Nowe kierunki projektowania leków przeciwdepresyjnych

Jednym z głównych ograniczeń obecnych terapii, opartych na selektywnych inhibitorach wychwytu zwrotnego serotoniny, jest ich jednokierunkowy mechanizm działania farmakologicznego. Podejście to, skupione na pojedynczym celu molekularnym, nie uwzględnia złożoności patofizjologii depresji, która wynika z dysregulacji złożonych szlaków biochemicznych. Dane literaturowe wskazują, że rozwój wielofunkcyjnych ligandów (ang. multi target directed ligands, MTDLs), zdolnych do jednoczesnego oddziaływania z kilkoma celami molekularnymi, może znacząco zwiększyć skuteczność farmakoterapii w MDD. Takie podejście pozwala nie tylko na skrócenie okresu latencji działania terapeutycznego, lecz także na zwiększenie jego efektywności w porównaniu do najczęściej stosowanych SSRI. Rozwój prac badawczych nad wielofunkcyjnymi ligandami z dodatkową aktywnością wobec innych receptorów serotoninowych, takich jak 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>, dopaminowych D<sub>2</sub> lub transporterów monoaminergicznych NET i DAT otworzyło nowe możliwości w leczeniu depresji i innych zaburzeń o podłożu psychiatrycznym.

Przykładem potwierdzającym skuteczność tej strategii jest wprowadzenie pierwszego leku SPARI (ang. serotonin partial agonist reuptake inhibitor) o podwójnej aktywności – wilazodonu (Rysunek 1, będącego agonistą receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz inhibitorem SERT co stanowiło przełom w farmakoterapii depresji. Jego mechanizm działania polegający na desensytyzacji presynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> z jednoczesnym wzmacnianiem transmisji serotonergicznej poprzez receptory postsynaptyczne, pozwolił na szybsze osiągnięcie efektu terapeutycznego [2].

Opisanych jest wiele innych leków stosowanych w chorobach OUN, które mają powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i innych celów molekularnych a efekt terapeutyczny który obserwujemy jest sumą tych oddziaływań - Rysunek 1 [3–8], co świadczy to dużym potencjale i znaczeniu tych ligandów przy projektowaniu nowych skutecznych leków.



**Rysunek 1** Leki zarejestrowane, o profilu działania częściowego agonisty receptora 5-HT<sub>1A</sub> [5–8].

Warto zaznaczyć, że w badaniach nad skutecznymi terapiami depresji, coraz większą uwagę poświęca się układowi dopaminergicznemu, który jest zaangażowany w regulację różnych funkcji, takich jak nastrój, motywacja i percepcja [9]. Badania przedkliniczne i kliniczne wskazują, że zaburzenia aktywności serotonergicznego w obrębie ośrodkowego układu nerwowego są kluczowymi czynnikami w depresji jednak inne neuroprzekaźniki monoaminowe, takie jak dopamina (DA), bezspornie również odgrywają rolę w tym procesie. Wiele objawów obserwowanych w depresji (np. anhedonia) jest związanych z dysfunkcją metabolizmu dopaminy, szczególnie z obniżoną tonicnością wyładowań neuronów dopaminergicznych, wywołaną przez aktywację inferolateralnej kory przedczołowej (ilPFC) [10]. Przyjmuje się, że receptory 5-HT pośrednio modulują uwalnianie dopaminy z neuronów [11]. Ponadto, leki jednocześnie oddziałujące na receptory D<sub>2</sub> i 5-HT<sub>1A</sub> mogą mieć korzyści w farmakoterapii schizofrenii (Rysunek 1) [12]. Badania kliniczne wykazały, że skojarzenie agonistów 5-HT<sub>1A</sub> z neuroleptykami klasycznymi lub atypowymi może zwiększyć ich działanie

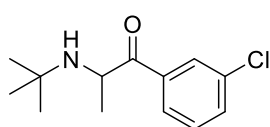
przeciwpyschotyczne, szczególnie w kontekście redukcji deficytów poznawczych [13,14]. Leki takie jak aripiprazol (częściowy agonista receptora 5-HT<sub>1A</sub>, D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub>; antagonist receptor 5-HT<sub>2A</sub>; inhibitor SERT), breksipiprazol (częściowy agonista receptora 5-HT<sub>1A</sub>, D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub> oraz antagonist receptorów 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> i 5-HT<sub>7</sub>) i kariprazyna (częściowy agonista receptora 5-HT<sub>1A</sub>, D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub> oraz antagonist receptora 5-HT<sub>2A</sub>) modułują zarówno neurotransmisję serotonergiczną, jak i dopaminergiczną, wywołując efekty przeciwdepresyjne [15,16]. Dodatkowo zmniejszają nasilenie objawów negatywnych częściowo poprzez receptory 5-HT<sub>1A</sub>, wywołując równocześnie łagodniejsze objawy pozapiramidowe [12].

Rola receptorów 5-HT<sub>2A</sub> i D<sub>2</sub> w terapii zarówno schizofrenii, jak i depresji jest dobrze udokumentowana [12,17,18]. Mówi się w tym kontekście o znaczącym wzajemnym oddziaływaniu szlaków dopaminergicznych i serotonergicznych. Wpływ na receptory serotoninowe, może leżeć u podstaw objawów kognitywnych i negatywnych występujących w psychozach i zaburzeniach nastroju [19,20]. Kłozapina, pionierski lek w grupie atypowych leków antypsychotycznych o znanej skuteczności wobec objawów negatywnych, działa jako antagonist receptorów 5-HT<sub>2A</sub>. Jej powinowactwo do receptora D<sub>2</sub> jest znacznie niższe w porównaniu do neuroleptyków klasycznych. Podobne właściwości wykazują inne atypowe leki antypsychotyczne: olanzapina, risperidon, zotepina, sertindol, kwetiapina, czy ziprasidon, na których odkrycie znaczny wpływ miała hipoteza Meltzera i wsp., iż związki z tej grupy powinny posiadać odpowiedni stosunek pK<sub>i</sub> 5-HT<sub>2A</sub>/D<sub>2</sub> (tzw. Indeks Meltzera) [19,21]. Przykładem leku przeciwdepresyjnego o profilu farmakologicznym obejmującym częściowy agonizm receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz antagonizm receptorów D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>7</sub> jest lurasydol (Rysunek 1), który został zatwierdzony przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) w czerwcu 2013 roku do leczenia ostrej fazy depresji dwubiegunowej [22]. Powyższe przykłady pokazują, że podejście wielocelowe wykorzystuje te interakcje synergistyczne przy projektowaniu leków jest obecnie bardzo znaczące.

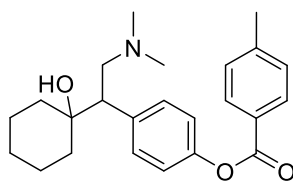
Szczególnie obiecujące wydają się badania nad nowymi lekami przeciwdepresyjnymi mającymi powinowactwo do SERT/5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>7</sub>. Stwierdzono, że jednoczesne podawanie leków z grupy SSRI oraz selektywnego antagonisty receptora 5-HT<sub>7</sub> (SB-269970) zwiększało działanie przeciwdepresyjne SSRI w modelach zwierzęcych [23]. Co więcej, współczesne badania udowodniły, że wortiooksetyna (Rysunek 1) jest jedynym lekiem przeciwdepresyjnym wykazującym działanie poprawiające funkcje poznawcze, co zostało powiązane z blokowaniem receptora 5-HT<sub>7</sub> [4,23].

W ostatnim czasie coraz większe zainteresowanie budzi także inny receptor serotoninowy – 5-HT<sub>6</sub> – jako istotny cel terapeutyczny wpływający na procesy uczenia się i pamięci. W rzeczywistości wykazano, że modulatory receptora 5-HT<sub>6</sub> w statystycznie istotny sposób poprawiają funkcje poznawcze [24,25].

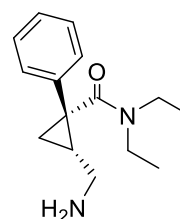
Inną ważną strategią terapeutyczną w leczeniu depresji opornej na leczenie jest projektowanie związków, które są ligandami dla transporterów monoaminergicznych (ang. monoamine transporters, MAT), w szczególności SERT, transporter norepinefryny (NET) oraz transporter dopaminy (DAT) [26]. Lewomilnacipran (Rysunek 2), zatwierdzony w 2013 roku, jest najnowszym inhibitorem wychwytu zwrotnego serotoniny i norepinefryny (ang. serotonin norepinephrine reuptake inhibitor, SNRI) o unikalnym profilu farmakologicznym, wykazującym około dwukrotnie wyższą skuteczność dla NET niż dla SERT. Bupropion (Rysunek 2), sklasyfikowany jako inhibitor wychwytu norepinefryny i dopaminy (ang. norepinephrine dopamine reuptake inhibitor, NDRI), został również zatwierdzony do leczenia ciężkich zaburzeń depresyjnych [26].



bupropion; NDRI



toludeswenlafaksyna; SNDRI



lewomilnacipran; SNRIs

### Rysunek 2 Przykładowe leki przeciwdepresyjne MATs.

Dowody z badań na zwierzętach sugerują, że bupropion podawany jednocześnie z lekami SSRI może zwiększyć ich skuteczność [27]. Aktualne badania podkreślają, że inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny, norepinefryny i dopaminy (ang. serotonin norepinephrine dopamine reuptake inhibitor, SNDRI) są obiecującymi związkami chemicznymi do leczenia depresji. Kilka z nich znajduje się obecnie na różnych etapach badań klinicznych. Na przykład toludeswenlafaksyna (znana wcześniej jako ansofaxyna, Rysunek 2) była pierwszym lekiem z grupy SNDRI zatwierdzonym w Chinach (2022) i obecnie jest badana przez Agencję ds. Żywności i Leków [28].

Na podstawie opisanych powyżej mechanizmów działania i wyników badań nad ligandami o polifarmakologicznym profilu receptorowym i wysokim powinowactwie do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz SERT można stwierdzić, że zasługują one na szczególną uwagę jako potencjalne nowe leki. Depresja i schizofrenia to złożone zaburzenia neurologiczne, które mają

wiele różnych objawów, dlatego wprowadzenie leków wielokierunkowych stało się powszechnie stosowanym podejściem terapeutycznym [29]. W odpowiedzi na te potrzeby opracowałam założenia własnych badań, których celem było projektowanie i synteza nowych związków o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego.

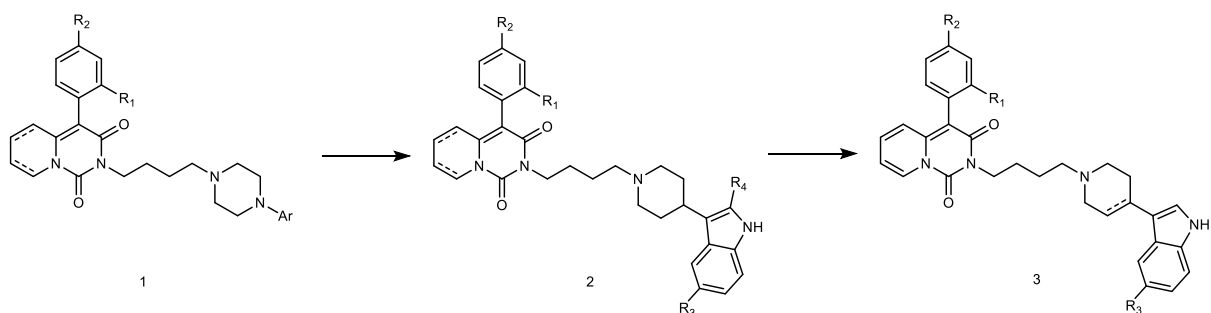
### 3.3.2 Cel naukowy

Celem naukowym prowadzonych przeze mnie badań było zaprojektowanie oraz synteza nowych związków o potencjalnym działaniu na choroby ośrodkowego układu nerwowego z aktywnością wobec transportera serotoniny (SERT), receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i innych celów molekularnych. Realizacja celu była możliwa dzięki wytypowaniu struktury wiodącej nowych pochodnych o wysokim powinowactwie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i SERT, z jednoczesnym zwiększeniem ich stabilności metabolicznej, ocenie ryzyka kardi toksyczności, poprawą profilu farmakokinetycznego oraz opracowaniu nowych metod syntezy i oczyszczania. Związki te zostały zaprojektowane jako potencjalne leki przeciwdepresyjne o wieloprofilowym działaniu farmakologicznym, które mogłyby przezwyciężyć ograniczenia obecnych terapii.

### 3.3.3 Omówienie wyników

#### [H1] “Novel 4-aryl-pyrido[1,2-c]pyrimidines with dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> activity. Part 4”

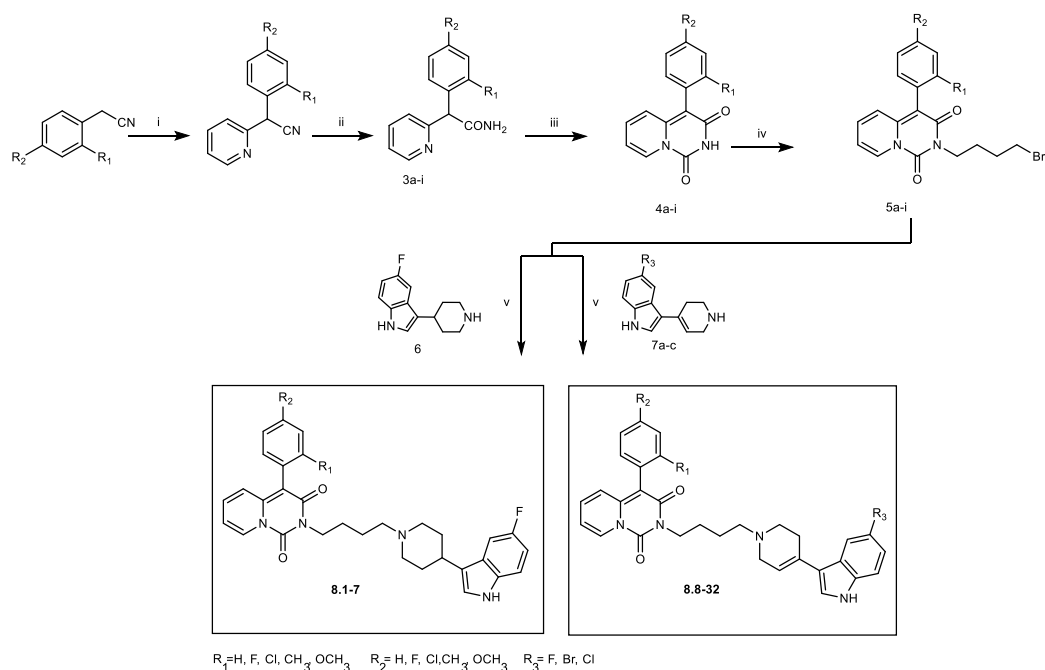
Początkiem moich badań nad otrzymaniem nowych związków o wysokim powinowactwie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i SERT było dołączenie do zespołu pracującego nad grupą pochodnych pirydo[1,2-c]pirymidyny. Pochodne 4-arylo-pirydo[1,2-c]pirymidyno-1,3-dionu i 4-arylo-5,6,7,8-tetrahydropirydo[1,2-c]pirymidyno-1,3-dionu (Rysunek 3), zostały zaprojektowane, jako ligandy receptora 5-HT<sub>1A</sub> w grupie LCAPs [30–32]. Moim celem naukowym była zmiana kierunku działania farmakologicznego pochodnych pirydo[1,2-c]pirymidyny przez zaproponowanie takich modyfikacji struktury, które poprawiłyby powinowactwo otrzymanych związków do SERT z zachowaniem bardzo dobrej aktywności względem receptora 5-HT<sub>1A</sub>.



**Rysunek 3** Wzór ogólny pochodnych pirydo[1,2-*c*]pirymidyno-1,3-dionu seria 1 [31,32] pochodne pirydo[1,2-*c*]pirymidyno-1,3-dionu seria indoloalkiloaminy (seria 2[33–35] oraz seria 3 [36].

Analizując dane literaturowe w obszarze ligandów transportera serotoniny oraz jego farmakofor brałam udział w tworzeniu koncepcji przeprojektowań struktury wiodącej pochodnych pirydo[1,2-*c*]pirymidyn (Rysunek 3). **Wynikiem tych rozważań była teza, że wprowadzenie w miejsce reszty arylopiperazyny reszty indoloalkiloaminy: 3-(piperydyn-4-yl)-1*H*-indolu i 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu, poprawi ich powinowactwo do transportera serotoniny.** Było to nowe podejście do projektowania związków o podwójnej wiązalności do 5-HT<sub>1A</sub>/SSRI w grupie pochodnych indoloalkiloamin a efektem tej strategii było otrzymanie serii 1–3 aktywnych ligandów SERT [33–35]. Rozwijałam te badania i współprojektowałam nowe pochodne pirydo[1,2-*c*]pirymidyn serii 3 (Rysunek 3) mając na uwadze, że analiza SAR (ang. structure-activity relationships) wyników dla serii 2 wykazała istotny wpływ podstawienia reszty indolowej w pozycji R<sub>3</sub> oraz grupą metoksy w pozycji R<sub>4</sub> (Rysunek 3). Podstawienie w R<sub>4</sub> powodowało znaczny spadek powinowactwa związków do receptora 5-HT<sub>1A</sub> serotoniny [33], dlatego projektując nową serię 3 - pochodne 8.1–32 (symbole według publikacji [H1]), zdecydowałam się z niego zrezygnować. Dodatkowym celem moich badań była ocena wpływu podstawnika halogenowego w pozycji R<sub>3</sub> w pierścieniu indolu na właściwości biologiczne i trwałość metaboliczną zaprojektowanych pochodnych 5-fluoro-, 5-chloro- lub 5-bromo-3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolowu seria 3 (Rysunek 3). W badaniach biologicznych *in vitro* dla związków 8.1–32 [H1] oznaczyłam ich wiązalności z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> oraz białkiem transportera serotoninowego SERT. W kolejnym etapie badałam trwałość zsyntetyzowanych związków w fazie pierwszego przejścia (badania ADME).

Pierwszym etapem moich badań była wieloetapowa synteza zaprojektowanych pochodnych 8.1–32 według Schemat 1. Otrzymałam wszystkie zaplanowane pochodne z dobrą wydajnością. Struktura otrzymanych pochodnych została potwierdzona metodami spektrometrycznymi HRMS oraz spektroskopowymi NMR.



**Schemat 1** Synteza zaplanowanych pochodnych pirydo[1,2-*c*]pirymidyny **8.1-32**. Reagenty i warunki reakcji (i) 2-bromopirydyna, KOH, DMSO, 50 °C, 12h; (ii) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, 100 °C, 1h; (iii) węglan dietylowy, EtONa, EtOH, 80°C, 6h; (iv) 1,4-dibromobutan, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, aceton; 60 °C, 2h (v) acetonitryl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KI, 82 °C.

W wyniku przeprojektowań otrzymałam szereg nowych pochodnych 4-arylo-pirydo[1,2-*c*]pirymidyny, których powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT oceniłam w badaniach radioreceptorowych *in vitro*, które zostały zrealizowane dzięki współpracy z Zakładem Neurobiologii Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk i Katedrą Farmakobiologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Badanie to zostało przeprowadzone według opisanych procedur [35,37–39]. Analiza SAR uzyskanych wyników badań wiązalności związków **8.1-32** do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz SERT (najważniejsze wyniki zebrano w Tabela 1) pozwoliła mi dokonać oceny wpływu na powinowactwo receptorowe: podstawników halogenowych R<sub>3</sub> w części indolowej (podstawniki F, Cl, Br), stopnia nasycenia pierścienia pirydyny ugrupowania 3-(piperidyn-4-ylo)-1*H*-indolowego oraz podstawników w pozycji *orto* lub *para* w pierścieniu arylowym układu pirydo[1,2-*c*]pirymidyny.

**Tabela 1** Wyniki badań radioreceptorowych powinowactwa do SERT i 5-HT<sub>1A</sub> pochodne 3-piperydyn-4-ylo-1*H*-indolu (skrót HHPI) i pochodnych 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu (skrót THPI) Schemat 1.

|             | R <sub>1</sub>   | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |      | K <sub>i</sub> 5-HT <sub>1A</sub> [nM] | K <sub>i</sub> SERT [nM] |
|-------------|------------------|----------------|----------------|------|----------------------------------------|--------------------------|
| <b>8.1</b>  | H                | H              | F              | HHPI | 12,4                                   | 15,6                     |
| <b>8.4</b>  | H                | F              | F              | HHPI | 12,8                                   | 19,4                     |
| <b>8.5</b>  | F                | H              | F              | HHPI | 9,2                                    | 25,7                     |
| <b>8.7</b>  | OCH <sub>3</sub> | H              | F              | HHPI | 5,6                                    | 20,7                     |
| <b>8.11</b> | H                | Cl             | F              | THPI | 265,1                                  | 58,2                     |
| <b>8.12</b> | H                | F              | F              | THPI | 219,7                                  | 11,3                     |
| <b>8.13</b> | F                | H              | F              | THPI | 115,5                                  | 3,9                      |
| <b>8.14</b> | Cl               | H              | F              | THPI | 127,3                                  | 5,2                      |
| <b>8.15</b> | CH <sub>3</sub>  | H              | F              | THPI | 295,0                                  | 58,8                     |
| <b>8.16</b> | OCH <sub>3</sub> | H              | F              | THPI | 251,5                                  | 20,8                     |
| <b>8.24</b> | OCH <sub>3</sub> | H              | Cl             | THPI | 97,8                                   | 717,9                    |
| <b>8.29</b> | H                | F              | Br             | THPI | 79,1                                   | 403,6                    |
| <b>8.32</b> | OCH <sub>3</sub> | H              | Br             | THPI | 33,1                                   | 1200,0                   |

Otrzymane ligandy wykazały w badaniach receptorowych podwójną aktywność posiadając powinowactwo od bardzo wysokiego do umiarkowanego do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz od bardzo wysokiego do słabego do SERT. Spośród grupy badanych pochodnych związki), **8.1** ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 12,4 nM,  $K_i$  SERT = 15,6 nM), i **8.4** ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 12,8 nM,  $K_i$  SERT = 19,4 nM) **8.5** ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 9,2 nM,  $K_i$  SERT = 25,7 nM, **8.7** ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 5,6 nM,  $K_i$  SERT = 20,7 nM) charakteryzowały się najlepszym powinowactwem receptorowym.

Oceniając uzyskane wartości powinowactwa do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz transporterów SERT stwierdziłam, iż najkorzystniejszy wpływ na wiązalność ligandów do obydwu wymienionych białek miała obecność reszty 5-fluoro-3-(piperydyn-4-ylo)-1*H*-indolowej oraz obecność grupy metoksy lub atomu fluoru w położeniu *para* w reszcie aryłowej układu 4-arylo-pirydo[1,2-*c*]pirymidyny. Obecność atomów chloru lub bromu w pozycji R<sub>3</sub> układu ugrupowania 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu wpływa na zmniejszenie wiązalności z białkami transporterów SERT, ale jednocześnie pochodne z R<sub>3</sub> = -Cl lub -Br

wielokrotnie wykazywały lepsze powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> w porównaniu do ich analogów z R<sub>3</sub> = -F, **8.16** vs **8.24** vs **8.32** (Tabela 1).

W badaniach stabilności metabolicznej ADME (ang. *absorption-distribution-metabolism-elimination*), przy użyciu ludzkich mikrosomów wątrobowych i NADPH, po 60 minutach inkubacji od 50 do 65% wszystkich badanych związków pozostało niezmienionych. Analiza zależności struktura-stabilność metaboliczna ujawniła, że najbardziej podatne na metabolizm okazały się pochodne **8.11** i **8.29** (w pozycji R<sub>1</sub> – wodór, R<sub>2</sub> i R<sub>3</sub> – halogen), natomiast zastąpienie podstawnika R<sub>2</sub> = halogenowego wodorem spowodowało zwiększenie stabilności. Najstabilniejszym związkiem był **8.16**, zawierający grupę metoksy w R<sub>1</sub>, co w porównaniu z analogiem **8.15** (posiadającym grupę metylową w R<sub>1</sub>) wskazuje na efekt stabilizujący, choć mechanizm ten nie występował jednoznacznie we wszystkich przypadkach.

Badania w grupie pochodnych pirydo[1,2-*c*]pirymidyny kontynuowałam badając wpływ zastąpienia reszty indoloalkiloaminy: 3-(piperydyn-4-yl)-1*H*-indolu i 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu resztą 2-(piperazyn-1-yl)chinoliny. Brałam udział w projekcie, w ramach którego współprojektowałam i współsyntetyzowałam serię pochodnych 2-(piperazyn-1-yl)chinoliny. Następnie określiliśmy ich aktywność przeciwdepresyjną w modelach zwierzęcych *in vivo*, wyniki te zostały opisane w publikacji [D1] – „*Novel 4-aryl-pyrido[1,2-*c*]pyrimidines with dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> activity. Part 5*” [40]. Analiza SAR wykazała, że wprowadzenie reszty 2-(piperazyn-1-yl)chinoliny nie poprawiło wiązalności z SERT w porównaniu do pochodnych indoloalkiloaminy opisanych we wcześniejszych pracach [H1], badane związki nie wykazywały też aktywności przeciwdepresyjnej w testach *in vivo*. Pochodne pirydo[1,2-*c*]pirymidyny były także przedmiotem badań, które dotyczyły opracowania nowej metody przygotowania próbek do badań stabilności metabolicznej z użyciem zminiaturyzowanego, drukowanego w 3D sorbentu, wyniki te zostały opisane w publikacji [D2] – „*Understanding performance of 3D-printed sorbent in study of metabolic stability*”[41]. W publikacjach [D1] i [D2] jestem współautorem, natomiast nie są one częścią cyklu “osiągnięcie naukowe” niemniej pozostają z nim tematycznie powiązane.

**Podsumowując, przeprowadzone przeze mnie badania nad związkami o podwójnej aktywności względem receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz transportera serotoniny (SERT) w grupie pochodnych pirydo[1,2-*c*]pirymidyny zdefiniowały kierunek moich dalszych badań nad poszukiwaniem potencjalnych leków przeciwdepresyjnych.** Ponieważ wyniki SAR opisane przeze mnie w [H1] doprowadziły do niejednoznacznych wniosków. Z jednej strony modyfikacja struktury wiodącej w części farmakoforowej polegająca na

wprowadzeniu reszty 3-(piperydyn-4-ylo)-1*H*-indolu i 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu oraz rezygnacja z podstawnika w pozycji R<sub>4</sub> (Rysunek 3) pierścienia indolowego okazała się trafna, co skutkowało wyraźnym zwiększeniem powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT. Z drugiej strony, wpływ podstawienia halogenowego w pozycji R<sub>3</sub> pierścienia indolowego na jednocześnie oddziaływanie z receptorami 5-HT<sub>1A</sub> oraz SERT wymagał dalszych badań. **W związku z tym, kontynuując poszukiwania związku o aktywności przeciwdepresyjnej, podjęłam decyzję o radykalnym przeprojektowaniu fragmentu pirydo[1,2-*c*]pirymidynowego.** Istotnym dla mnie spostrzeżeniem była również wysoka stabilność metaboliczna otrzymanych pochodnych serii 3, co miało znaczenie w dalszych etapach optymalizacji struktury związków z układem 3-(piperydyn-4-ylo)-1*H*-indolu i 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu.

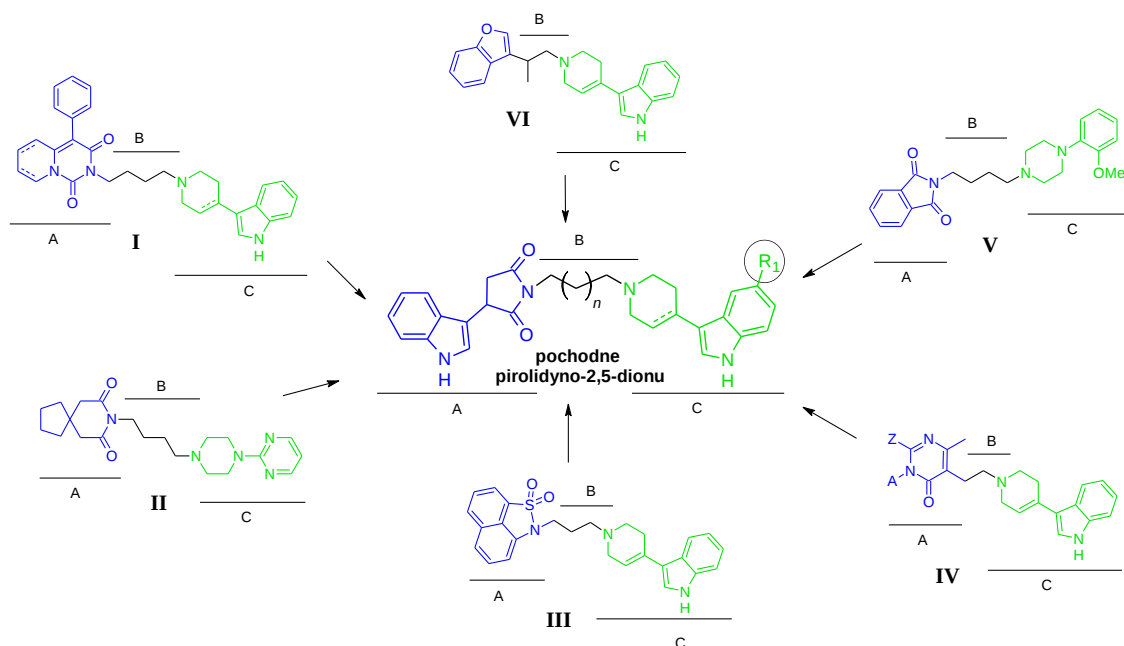
[H2] “Synthesis and biological evaluation of novel pyrrolidine-2,5-dione derivatives as potential antidepressant agents. Part 1”

**Wyniki uzyskane podczas moich badań nad pochodnymi pirydo[1,2-*c*]pirymidyny oraz analiza danych literaturowych dotycząca ligandów receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT stanowiły punkt wyjścia do sformułowania nowej koncepcji badań i zaprojektowania przeze mnie nowej serii związków o podwójnej wiązalności z 5-HT<sub>1A</sub> i SERT – pochodnych pirolidyno-2,5-dionu zawierających resztę 3-(piperydyn-4-ylo)-1*H*-indolu lub 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu - Rysunek 4.**

Projektując związki tej serii analizowałam modele farmakoforowe ligandów 5-HT<sub>1A</sub> i SERT, czego efektem była moja decyzja o zachowaniu w strukturze pochodnych pirolidyno-2,5-dionu elementów istotnych dla powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub>, czyli:

- zasadowego atomu azotu kluczowego dla wytworzenia oddziaływania jonowego z Asp116 w miejscu aktywnym receptora 5-HT<sub>1A</sub>;
- pierścienia aromatycznego tworzącego oddziaływanie hydrofobowe w miejscu aktywnym;
- imidowej grupy karbonylowej zdolnej do wytworzenia wiązania wodorowego w miejscu aktywnym [42].

Molekulę pochodnych pirolidyno-2,5-dionu podzieliłam na trzy obszary A, B i C Rysunek 4. Rozpoczynając badania nad optymalizacją oddziaływania z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> i SERT, ich obszary B i C poddałam licznym przeprojektowaniom w celu zbadania ich wpływu na powinowactwo do wymienionych celów molekularnych.



**Rysunek 4** Związki o udowodnionym powinowactwie do SERT lub/i 5-HT<sub>1A</sub>, które posłużyły do zaprojektowania struktury wiodącej. **(I)** – pochodne pirydo[1,2-*c*]pirymidyny [33][H1], **(II)** – buspiron, **(III)** – pochodne naftalenosulfonowe [43], **(IV)** – pochodne 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu [44], **(V)** – NAN170 [45], **(VI)** – pochodne benzofuranu [46].

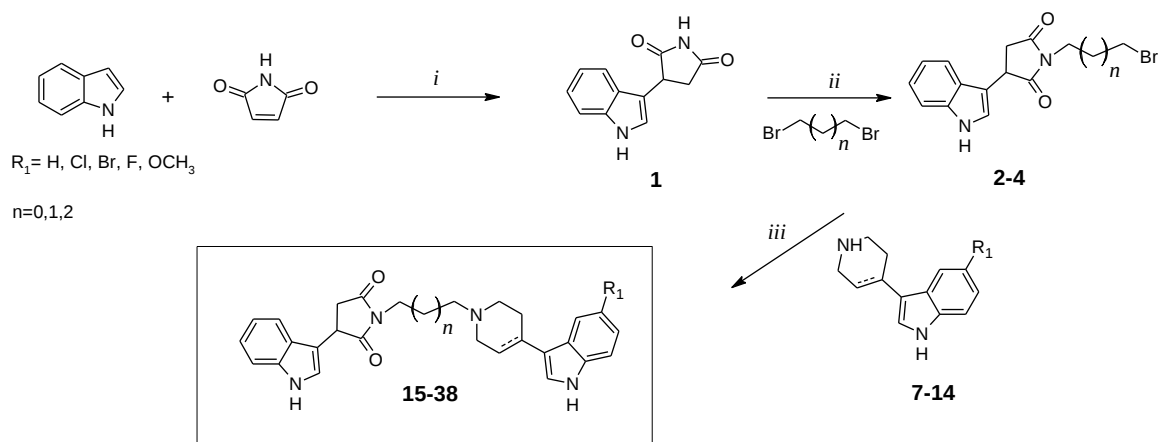
**Obszar A** to część o charakterze imidu cyklicznego. Dokonałam przeprojektowania w obszarze części pirydo[1,2-*c*]pirymidyny **I** (Schemat 1) zastępując ją układem 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu. Projektując ligandy 5-HT<sub>1A</sub> dużo uwagi badacze poświęcali grupie pochodnych 4-( $\omega$ -alkilo)-1-arylopiperazyny, w których w pozycji  $\omega$  łańcucha alkilowego jest układ amidu lub imidu. Do tej grupy należą np.: buspiron (**II**), NAN-190 (**V**), gepiron (**3**), MM199 (**4**) MM77 (**5**), MP349 (**6**) – Rysunek 4 [45,47]. Zgodnie z tymi wynikami badań, obecność grupy imidowej oraz jej lipofilowy charakter wpływają na stabilizację kompleksu ligand-receptor poprzez interakcje dipol-dipol oraz  $\pi$ - $\pi$ . Ponadto jej struktura oraz steryczne ułożenie mogą odgrywać istotną rolę w selektywności względem receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz  $\alpha_1$  [48–50] Tworzy ona również bezpośrednie oddziaływania z receptorem, co może dodatkowo wpływać na jego stabilizację oraz selektywność wiązania [45,51].

**Obszar B** to łącznik alkilowy Rysunek 4. Jako jedną z modyfikacji wprowadziłam łańcuch dwu-, trzy- lub czterowęglowy w celu zbadania wpływu jego długości na aktywność związków o podwójnej wiązalności do 5-HT<sub>1A</sub>/SSRI, zgodnie z wcześniejszymi wynikami badań. Obecnie uważa się, że to nie hydrofobowy charakter łańcucha determinuje oddziaływanie związku z receptorem, lecz przede wszystkim odległość oraz sposób ułożenia przestrzennego molekuly, w tym giętkość lub sztywność alkilowego [42,43,52].

**Obszar C** to w zaprojektowanych przeze mnie związkach układ 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu (skrót THPI) lub 3-(piperyd-4-ylo)-1*H*-indolu (skrót PPI), farmakofor dla ligandów 5-HT<sub>1A</sub> i SERT [53]. Układ ten stanowi integralną część struktury związków wykazujących działanie wielokierunkowe na ośrodkowy układ nerwowy, w tym również na inne receptory serotoninowe. Liczne badania potwierdzają jego wysokie powinowactwo oraz kluczową rolę w wiązaniu z receptorami 5-HT<sub>1A</sub> oraz transporterem serotoniny (SERT), w tym także wyniki badań przedstawione przeze mnie w [H1]. Powinowactwo tego układu do SERT zostało udokumentowane w badaniach prowadzonych m.in. przez Matzena i wsp., Deskusa i wsp., Venkatesana i wsp. oraz van Hesa i wsp. [53–56].

W celu otrzymania zaprojektowanych pochodnych **15–38** opracowałam ich wieloetapową metodę syntezy chemicznej zgodnie ze Schemat 2. **Opracowana i optymalizowana przeze mnie metoda syntezy pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu** pozwoliła na otrzymanie dużej biblioteki związków, stanowiła prosty, tani i bardzo skuteczny sposób otrzymywania ligandów o obiecującej aktywności biologicznej względem 5-HT<sub>1A</sub> i SERT, która może być stosowana do syntezy innych serii pochodnych z łącznikiem alkilowym (wskazuje na to pośrednio liczba cytowań dla artykułu [H2] = ok 40). W pierwszym etapie w wyniku kondensacji maleimidu z indolem wobec lodowatego kwasu octowego uzyskałam produkt **1** (numeracja związków zgodna z [H2]). Jest to modyfikacja reakcji addycji Michaela opisana przez Macor et al. [57–59]. Do syntezy związków końcowych niezbędne było otrzymanie trzech szeregów syntonów:

- N- bromoalkilowych pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu **2–4**;
- pochodnych 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu (THPI);
- pochodnych 3-(piperydyn-4-ylo)-1*H*-indolu (PPI).



**Schemat 2** Synteza pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu **15–38** [H2]. Odczynniki i warunki reakcji: (i) CH<sub>3</sub>COOH (ii) BrCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>Br (n = 0, 1 lub 2), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, aceton (iii) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KI (kat.), CH<sub>3</sub>CN.

Opracowałam metodę oczyszczania pochodnych pirolidyno-2,5-dionu **15–38** – aby uzyskać próbki analityczne do dalszych badań biologicznych. Zastosowałam chromatografię kolumnową flash lub grawitacyjną, używając mieszaniny dichlorometanu i metanolu w różnych proporcjach jako eluentu, w kilku przypadkach przeprowadziłam krystalizację z eteru etylowego. Strukturę chemiczną związków potwierdziłam na podstawie widm  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  oraz HRMS.

Otrzymane związki **15–38** poddałam analizie w badaniach radioreceptorowych *in vitro*, obejmujących test wiązania z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> oraz transporterem serotoniny (SERT). Aby móc ocenić ich selektywność oraz ich potencjalną aktywność wobec innych celów molekularnych, zaplanowałam dodatkowe badania ich powinowactwa do receptorów 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub> oraz D<sub>2</sub>. Badania biologiczne *in vitro* zrealizowałam dzięki współpracy z Zakładem Chemii Leków Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie oraz Katedrą Farmakobiologii na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, najważniejsze wyniki zebrano w Tabela 2.

**Tabela 2** Powinowactwo do SERT i 5-HT<sub>1A</sub> pochodnych **15–38**, seria 3-(1,2,3,6-tetrahydropyrydyn-4-ylo)-1*H*-indolu (THPI) i 3-piperydyny-4-ylo-1*H*-indolu (PPI) Schemat 2.

| compound  | R <sub>1</sub>   | n | seria | K <sub>i</sub> ± SEM [nM] |              |
|-----------|------------------|---|-------|---------------------------|--------------|
|           |                  |   |       | 5-HT <sub>1A</sub>        | SERT         |
| <b>15</b> | H                | 2 | THPI  | 12.5 ± 1.7                | 11.3 ± 0.6   |
| <b>18</b> | F                | 2 | THPI  | 17.6 ± 2.9                | 20.0 ± 0.7   |
| <b>19</b> | OCH <sub>3</sub> | 2 | THPI  | 3.2 ± 0.2                 | 46.2 ± 2.5   |
| <b>20</b> | H                | 1 | THPI  | 161.4 ± 17.5              | 4.0 ± 0.1    |
| <b>23</b> | F                | 1 | THPI  | 106.3 ± 7.2               | 5.2 ± 0.7    |
| <b>28</b> | F                | 0 | THPI  | 371.7 ± 32.1              | 68.4 ± 3.8   |
| <b>30</b> | H                | 2 | PPI   | 15.7 ± 2.0                | 5.7 ± 0.5    |
| <b>31</b> | F                | 2 | PPI   | 7.5 ± 0.6                 | 505.0 ± 49.0 |
| <b>32</b> | OCH <sub>3</sub> | 2 | PPI   | 2.2 ± 0.7                 | 210.0 ± 18.0 |
| <b>37</b> | F                | 0 | PPI   | 8.1 ± 0.9                 | 381.0 ± 36.0 |

Zaprojektowane przeze mnie pochodne pirolidyno-2,5-dionu okazały się bardzo obiecujące, ponieważ wykazywały bardzo dobrą wiązalność zarówno z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> jak i SERT, szczególnie pochodne 15 i 30 stanowiły dobry punkt wyjścia do dalszych badań nad lekami przeciwdepresyjnymi, a ich aktywność była porównywalna z najnowszymi lekami przeciwdepresyjnymi wilazodonem ( $K_i$  SERT = 1,9 nM; 5-HT<sub>1A</sub> = 9,7) i wortiooksetyną ( $K_i$  SERT = 1,6 nM; 5-HT<sub>1A</sub> = 15,0).

Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowałam zależności struktura-aktywność. Badając wpływ zmiany długości łańcucha na wiązalność do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i transportera SERT stwierdziłam, że dla uzyskania dobrej wiązalności do receptora i transportera najbardziej optymalny jest łącznik czterowęglowy. Wprowadzenie łącznika dwuwęglowego powoduje spadek powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT.

Jak wykazała przeprowadzona przeze mnie analiza SAR wyników badań *in vitro*: na powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub> i SERT związków 15–38, duży wpływ ma obecność wiązania podwójnego w pierścieniu pirydynowym (seria THPI). Seria związków THPI 15–29 generalnie wykazuje dużo większe powinowactwo do SERT, podczas gdy seria związków PPI 30–38 wykazuje dużo większe powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> w porównaniu do serii THPI. Analizowałam wpływ podstawników w R<sub>1</sub> w pozycji C5 1*H*-indolu w części C molekuly, zarówno w serii THPI jak i PPI stwierdziłam, że dla uzyskania związku o podwójnej wiązalności istotne jest podstawienie w R<sub>1</sub> atomem fluoru lub grupą metoksy.

Analizując wyniki przedstawione w [H2], stwierdziłam, że w badanej grupie pochodnych części związków wykazuje bardzo wysokie powinowactwo wyłącznie do transportera serotoniny (SERT) lub wyłącznie do receptora 5-HT<sub>1A</sub>. Ponadto zaobserwowałam ścisłą zależność tej selektywności od struktury chemicznej badanych związków. **To spostrzeżenie było dla mnie istotne, ponieważ otwierało możliwość zastosowania zaprojektowanych przeze mnie pochodnych w innych obszarach terapeutycznych, takich jak leki anksjolityczne, przeciwpyschotyczne, przeciwbólowe czy jako narzędzia farmakologiczne.**

Analizowałam wpływ modyfikacji struktury wiodącej związków 15–38 dla uzyskania związku o najlepszym powinowactwie do transportera SERT. Najlepsze wiązalności wykazują generalnie związki z serii THPI, podstawione w R<sub>1</sub> = -F lub R<sub>1</sub> = -H oraz z łańcuchem trzy- i czterowęglowym w części B molekuly. Z kolei najlepszą wiązalność z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> wykazywały związki 19 i 32 o łańcuchu czterowęglowym podstawione R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>. Ciekawym wynikiem było wysokie powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub> związku 37 (dwuwęglowym łącznik) podstawiony w pozycji R<sub>1</sub> = -F. Co pokazało że nie powinnam rezygnować z tej długości linkera projektując kolejne pochodne w tej grupie związków.

Aby zweryfikować potencjał badanej grupy pochodnych jako ligandów o polifarmakologicznym profilu, zbadałam je na powinowactwo do receptorów D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub> w badaniach *in vitro*. Związki **31** i **37** (seria PPI), posiadające w swojej strukturze układ 5-fluoro-3-piperydyn-4-ylo-1*H*-indolu, wykazały bardzo dobrą wiązalność z receptorem D<sub>2</sub> i 5-HT<sub>2A</sub>, co jest ciekawym punktem wyjścia poszukiwania nowych ligandów w terapii takich chorób jak schizofrenia.

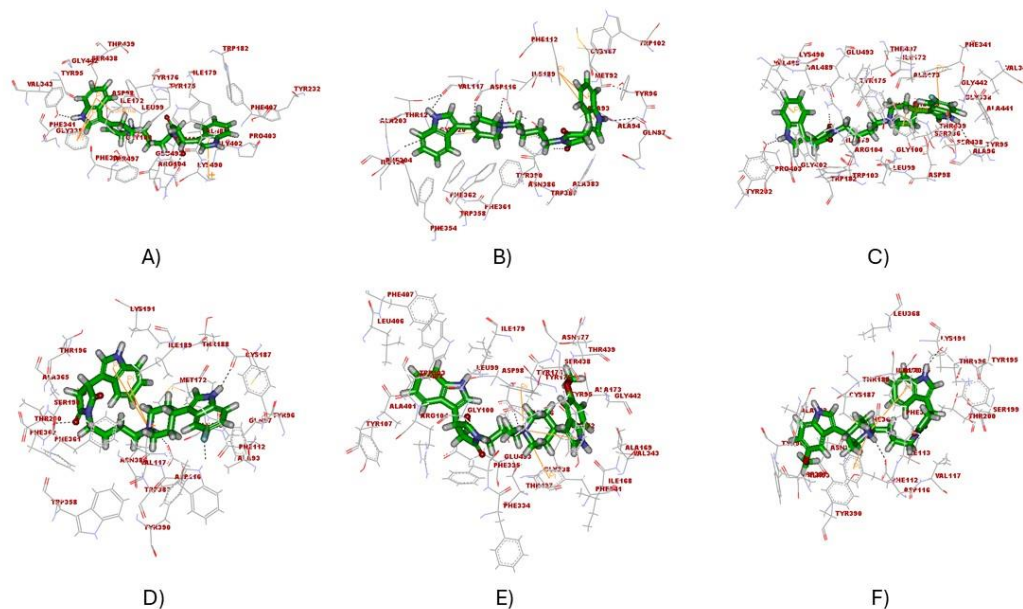
**Szukając wyjaśnienia znaczących różnic w powinowactwie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i transportera serotoniny (SERT) wśród otrzymanych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu, w zależności od obecności pierścienia piperydyny (seria PPI) lub 1,2,3,6-tetrahydropirydyny (seria THPI) w obszarze C molekuly, przeanalizowałam widma <sup>1</sup>H NMR badanych związków. Analiza ta ujawniła charakterystyczne cechy konformacyjne, które mogą być pomocne w projektowaniu nowych serii związków zawierających układ THPI lub PPI. Struktury te są powszechnie wykorzystywane w chemii medycznej przy opracowywaniu ligandów receptorów serotoninowych.** Analizując wyniki stwierdziłam, że układ serii THPI charakteryzuje się dynamiczną strukturą i szybkim przełączaniem konformacyjnym typu krzesło-krzesło, a jego orientacja przestrzenna związana jest z możliwością niekorzystnych oddziaływań z protonami łącznika węglowego. W serii PPI dynamika zmian konformacyjnych jest mniejsza, co widać w wyraźnym rozróżnieniu protonów aksjalnych i ekwatorialnych w pierścieniu piperydyny. Atomy w płaszczyźnie pierścienia (*eq*) są mniej ekranowane przez otaczającą elektronową gęstość niż atomy aksjalne (*ax*), co potwierdzają widma <sup>1</sup>H NMR. Długość łańcucha alifatycznego wpływa na rotację fragmentów A, B, C; w związkach z czterowęglowym łańcuchem rotacja jest swobodna, co widać w widmach jako triplety i kwintety sygnałów, podczas gdy w związkach z dwuwęglowym łańcuchem rotacja jest ograniczona, co skutkuje multiplotami. Różnice w dynamice konformacyjnej mogą wpływać na powinowactwo do receptorów oraz orientację cząsteczki w kieszeni wiążącej.

Dla wybranych pochodnych **15**, **31** i **32**, w ramach współpracy z Katedrą i Zakładem Chemii Leków Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, wyznaczyłam oddziaływania w kieszeni wiążącej modelu 5-HT<sub>1A</sub>R<sup>(1)</sup> metodą dokowania ligandu do białka przy pomocy modelowania molekularnego oraz do SERT gdzie wykorzystano model homologiczny do

---

<sup>(1)</sup> Korzystano z gotowych modeli białek. „Receptor 5-HT<sub>1A</sub> - został zaprojektowany na podstawie homologii z receptorem β2-adrenergicznym zawierającym karbamizol w miejscu wiążącym. Dodatkową modyfikacją Kurta Kristiansena było zastąpienie aminokwasów: Asn386 i Tyr390 alaniną w roboczym modelu białka, aby ułatwić dostęp do kieszeni wiążącej, a w szczególności do Asp116, której przypisuje się największą rolę w wiązaniu liganda. Przy tworzeniu finalnego modelu Kristiansen przywrócił tyrozynę i kwas asparaginowy w miejsce alaniny i zoptymalizował miejsce wiążące receptora wykorzystując metodę Monte Carlo przy użyciu programu ICM-Pro”[110].

struktury krystalicznej LeuTAa (*Aquifex aeolicus*). Dokowanie do receptora 5-HT<sub>1A</sub> wykonano przy użyciu programu Schrödinger Induced Fit Docking (IFD). Obróbkę graficzną kieszeni wiążącej wykonano w programie Discovery Studio Client 2.5.5[60,61].



**Rysunek 5** Zadokowane związki: **15** [H<sub>2</sub>] A) w kieszeni wiążącej SERT, B) w kieszeni wiążącej receptora 5-HT<sub>1A</sub>; **31** [H<sub>2</sub>] C) w kieszeni wiążącej SERT, D) w kieszeni wiążącej receptora 5-HT<sub>1A</sub>; **32** [H<sub>2</sub>] E) w kieszeni wiążącej SERT, F) w kieszeni wiążącej receptora 5-HT<sub>1A</sub>.

Na podstawie tych badań potwierdziłam duży potencjał badanej grupy pochodnych jako ligandów 5-HT<sub>1A</sub>R i SERT były one także dla mnie wskazówką przy projektowaniu dalszych modyfikacji struktury takich jak wybór podstawnika R<sub>1</sub>. Najważniejsze wnioski jakie zaobserwowałam na podstawie wyników dokowania molekularnego badanych pochodnych:

- powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz transportera serotoniny (SERT) jest w głównej mierze determinowane przez elektroujemność podstawnika R<sub>1</sub> oraz dopasowanie rozmiaru ligandu do geometrii kieszeni wiążącej;
- wszystkie trzy związki tworzą wiązania wodorowe z resztą Asp116, przy czym najsilniejsze z nich obserwuje się dla związku **31** (1,75 Å) - Rysunek 5. Wynika to z najwyższej elektroujemności podstawnika fluorowego w porównaniu do -H oraz -OCH<sub>3</sub>. W konsekwencji silny efekt indukcyjny podstawnika -F sprawia, że protonowana piperydyna jest znacznie bardziej efektywnym donorem protonu.
- związki **32** i **31** wykazują istotnie niższą aktywność względem SERT w porównaniu do związku **15**, prawdopodobnie dzieje się tak ze względu na większe rozmiary podstawników -OCH<sub>3</sub> oraz -F w porównaniu do -H, co w połączeniu ze stosunkowo niewielką pojemnością

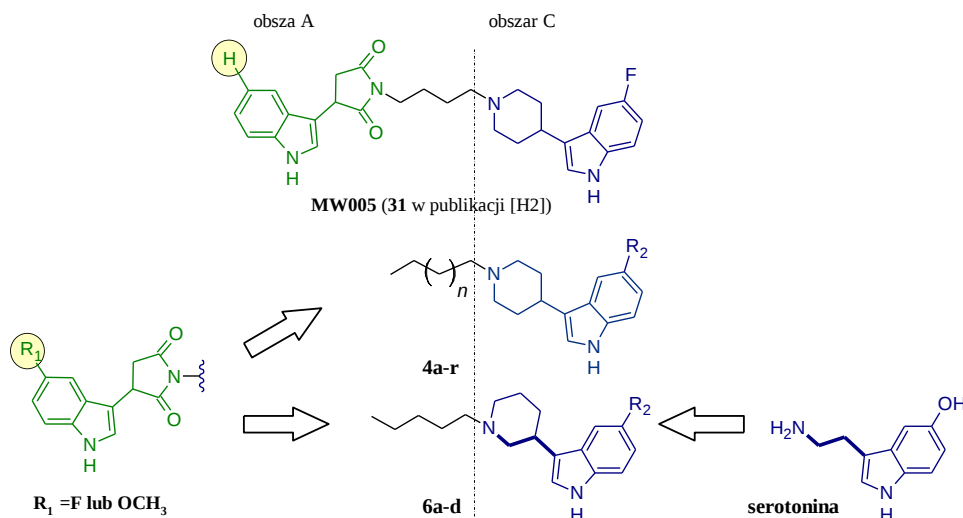
kieszeni wiążącej SERT jest wytłumaczeniem, że powinowactwo badanych związków do SERT jest prawdopodobnie determinowane głównie przez czynniki steryczne.

Wyselekcjonowałam najbardziej obiecujące pochodne które zbadałam w testach *in vivo*, co pozwoliło mi określić ich właściwości agonistyczno-antagonistyczne w stosunku do pre- i postsynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub>. Badania *in vivo* były możliwe dzięki mojej współpracy z Zakładem Neurobiologii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie. Wykorzystałam podstawowe modele skринingowe umożliwiające oznaczenie profilu funkcjonalnego związków na receptor 5-HT<sub>1A</sub> (test wymuszonej hipotermii oraz LLR) oraz aktywności przeciwdepresyjnej (test Porsolt'a oraz spontanicznej aktywności lokomotorycznej) u myszy. Wszystkie zbadane związki wykazały aktywność jako agoniści receptora 5-HT<sub>1A</sub>, związki **15** i **30** są agonistami postsynaptycznymi natomiast **18** i **19** agonistami presynaptycznymi.

Podsumowując, uzyskane przeze mnie wyniki badań dla serii pochodnych 3-(1*H*-indol-3-yl)pirolidyno-2,5-dionu **15–38** potwierdziły duży potencjał tej grupy związków nie tylko jako związków o podwójnej wiązalności do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i transportera SERT, ale także jako potencjalnych selektywnych ligandów o wysokim powinowactwie do powyższych celów molekularnych. W badaniach *in vivo* związki **15** i **30** wykazały aktywność agonistyczną wobec postsynaptycznego receptora 5-HT<sub>1A</sub>. **Zaprojektowane przeze mnie związki okazały się bardzo obiecujące jako potencjalne leki w grupie SPARI, dlatego postanowiłam kontynuować badania nad tą grupą pochodnych, aby poprawić ich powinowactwo do SERT i 5-HT<sub>1A</sub>, pogłębić badania pod kątem ich aktywności przeciwdepresyjnej, stabilności metabolicznej, właściwości farmakokinetycznych oraz bezpieczeństwa kardiologicznego.**

Ciekawym związkiem okazał się 1-{4-[4-(5-fluoro-1*H*-indol-3-yl)piperidin-1-yl]butyl}-3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidino-2,5-dione któremu nadałam symbol **MW005 (31** w publikacji [H2]), który wykazał potencjał jako ligand o profilu multireceptorowym i został przeze mnie wytypowany jako struktura wiodąca do dalszych optymalizacji.

[H3] “Synthesis and biological evaluation of new multi-target 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives with potential antidepressant effect.”



**Rysunek 6** Strategia projektowania nowej serii pochodnych pirolidyno-2,5-dionu na podstawie optymalizacji związku MW005 (31 w publikacji [H2]).

Pomimo, że moim głównym celem badawczym pozostawało otrzymanie serii związków o bardzo wysokiej podwójnej wiązalności do 5-HT<sub>1A</sub>/SSRI to obszar badań dotyczący ligandów o wielokierunkowej aktywności receptorowej i możliwość ich zastosowania w terapii chorób ośrodkowego układu nerwowego stał się dla mnie ważnym kierunkiem badawczym. Skoncentrowałam się na otrzymaniu związków o wysokim powinowactwie do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz polifarmakologicznym profilu receptorowym. Dlatego kolejnym etapem moich badań w grupie pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu była ocena wpływu modyfikacji struktury ich obszaru A – pirolidyno-2,5-dionu – na wiązanie do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i innych celów molekularnych, Rysunek 6.

Jako strukturę wiodącą dla leków o polifarmakologicznym profilu receptorowym w grupie pochodnych pierolidyno-2,5-dionu wytypowałam związek MW005 (opisany w [H2] jako 31), został on zidentyfikowany jako silny ligand  $K_i$  [nM]: 5-HT<sub>1A</sub> = 7,5; SERT = 505,0; D<sub>2</sub> = 14,0; 5-HT<sub>2A</sub> = 71,0; 5-HT<sub>6</sub> = 63,0; 5-HT<sub>7</sub> = 196,0. Zaprojektowałam i zsyntetyzowałam serię pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu (4a–r numeracja zgodna z [H3]), zawierających dwu-, trzy- lub czterowęglowy łącznik – obszar B molekuly, podstawnik metoksy (-OCH<sub>3</sub>) lub fluoro (-F) w pozycji C5 pierścienia 1*H*-indolowego (R<sub>1</sub>) – obszar A molekuly, oraz różne podstawienia w części farmakoforowej – obszar C cząsteczki 3-piperydyn-4-ylo-1*H*-indolu (R<sub>2</sub> = -H, -F lub -OCH<sub>3</sub>) Rysunek 6.

Mając na uwadze koncepcję opracowania ligandów o wysokim powinowactwie do receptora 5-HT<sub>1A</sub>, zaplanowałam modyfikację struktury polegającą na zastąpieniu fragmentu 3-piperydyn-

4-ylo-1*H*-indolu ugrupowaniem 3-piperydyn-3-ylo-1*H*-indolu w związkach **6a–d**, Rysunek 6. Ta modyfikacja powoduje dokładniejsze odwzorowanie w molekułe badanych związków cząsteczki serotoniny i wprowadza ograniczenia konformacyjne (usztynwienie struktury), które mają na celu zwiększenie ich aktywności poprzez wzrost powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> [62–64]. W celu otrzymania zaprojektowanych pochodnych wykorzystałam wcześniej opracowaną przeze mnie wieloetapową metodę syntezy (Schemat 2), którą poddałam modyfikacjom w celu otrzymania nowych nieopisanych wcześniej syntonów 1-(4-bromoalkilo)-3-(5-podstawionych-1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu.

Zaprojektowane przeze mnie pochodne **4a–r** i **6a–d** (numeracja zgodna z [H3]) poddałam ocenie pod kątem powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz zdolności do hamowania wychwytu zwrotnego serotoniny. Wytypowane przeze mnie związki następnie przebadalam pod kątem ich powinowactwa do receptorów D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub>, a także w szeregu testów obejmujących stabilność metaboliczną, przewidywaną biodostępność oraz wpływ na kanał hERG. Ostatecznie najbardziej obiecujące związki, wykazujące pożądane profile receptorowe, przekazałam na badania *in vivo* w zwierzęcym modelu depresji. Badania biologiczne *in vitro* zostały zrealizowane dzięki mojej współpracy z Zakładem Chemii Leków Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie oraz Katedrą Farmakobiologii na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Analiza zależności struktura-aktywność pozwoliła mi na sformułowanie następujących wniosków dotyczących wprowadzonych przeze mnie modyfikacji w badanej grupie pochodnych:

#### **Powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub>**

- generalnie czterowęglowy łącznik alkilowy okazał się kluczowy dla wysokiego powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub>. Analogi z krótszym łańcuchem alifatycznym wykazywały średnio 30-krotnie wyższe wartości  $K_i$ . Było to sprzeczne z moimi wcześniejszymi wynikami opisanymi w [H2], które wskazywały na dobre powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub> ligandów z dwuwęglowym łącznikiem;
- modyfikacja w obszarze A - ugrupowania 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu polegająca na wprowadzeniu w R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub> lub -F Rysunek 6 spowodowała, że w porównaniu do swoich 5-fluorowych analogów (**4j–r**, R<sub>1</sub> = -F), prawie wszystkie związki z grupą metoksy (**4a–i**, R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>) wykazywały wyższe powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub>;

- wyniki badań wiązania nie wykazały istotnych różnic w powinowactwie do 5-HT<sub>1A</sub> wynikających z rodzaju podstawnika R<sub>2</sub> w części farmakoforowej cząsteczki, szczególnie w przypadku najbardziej aktywnej serii z czterowęglowym łącznikiem.

Prowadząc badania poddałam ocenie wpływ zastąpieniu fragmentu 3-piperydyn-4-ylo-1*H*-indolu ugrupowaniem 3-piperydyn-3-ylo-1*H*-indolu w związkach **6a–d** Rysunek 6. Seria **6a–d** wykazała dobre powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub>, a ich wartości  $K_i$  wynosiły od 52,0 nM do 183,0 nM. Na podstawie tych wyników stwierdziłam, że pochodne serii **6** są silnymi ligandami receptora 5-HT<sub>1A</sub>.

### Powinowactwo do SERT

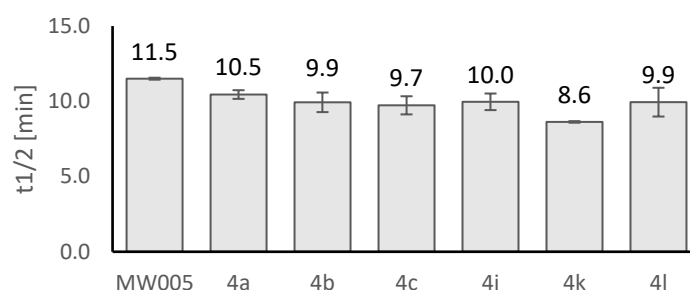
Analizując wyniki *in vitro* stwierdziłam, że większość związków z serii **4a–r** wykazała umiarkowane działanie inhibicyjne wobec SERT, pomimo tego nadal niektóre z nich charakteryzowały się dobrą podwójną wiązalnością: **4b** (5-HT<sub>1A</sub>  $K_i$  = 4,9 nM, SERT  $K_i$  = 17,5 nM) oraz **4k** (5-HT<sub>1A</sub>  $K_i$  = 7,0 nM, SERT  $K_i$  = 32,4 nM). Wyniki te potwierdzają moje wcześniejsze wnioski [H2], że aby uzyskać powinowactwo podwójne do 5-HT<sub>1A</sub> i SERT w badanej grupie pochodnych pirolidyn-2,5-dionu, wprowadzenie czterowęglowego łącznika wraz z podstawionym 5-fluoro-3-piperydyno-4-ylo-1*H*-indolem jest wysoce zalecane. **Na podstawie powyższych wyników postawiłam tezę, że aby otrzymać związki o bardzo wysokim podwójnym powinowactwie do 5-HT<sub>1A</sub>/SERT pochodnych pirolidyno-2,5-dionu należy wrócić do pochodnych z układem 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu (THPI) [H2], ponieważ wydaje się on być kluczowy dla powinowactwa z SERT.**

Aby zweryfikować potencjał badanej grupy pochodnych jako ligandów o polifarmakologicznym profilu, wybrane analogi **MW005** zawierające czterowęglowy łącznik zbadalam pod kątem ich powinowactwa do receptorów D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub> w badaniach *in vitro*. Związki **4a** i **4j** wykazały wysoką aktywność wobec receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub>. Analizując wyniki związek 1-{4-[4-(1*H*-indol-3-yl)piperidin-1-yl]butyl}-3-(5-fluoro-1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione (**4j**) wytypowałam jako szczególnie obiecujący ze względu na dobre powinowactwo do wszystkich testowanych receptorów ( $K_i$  [nM]: 5-HT<sub>1A</sub> = 13, SERT = 51, D<sub>2</sub> = 190, 5-HT<sub>2A</sub> = 50, 5-HT<sub>6</sub> = 29 i 5-HT<sub>7</sub> = 50). **Bardzo interesującym wynikiem jaki otrzymałam badając pochodne pirolidyno-2,5-dionu jest to, że związki opisane we wcześniejszym badaniu wykazywały średnie do niskiego powinowactwo do receptorów 5-HT<sub>7</sub> [H2]. Natomiast zaproponowana przeze mnie modyfikacja czyli wprowadzenie podstawnika fluoru lub grupy metoksy (R<sub>1</sub>) w części A**

molekuły znacząco zwiększyła powinowactwo do 5-HT<sub>7</sub> (**4a**  $K_i = 25$  nM, **4j**  $K_i = 50$  nM). Innym ważnym wynikiem jest to, że pochodne **MW011** (związek **32** [H2]) i **4c**, zawierające 5-metoksy-4-piperydino-4-ylo-1*H*-indol ( $R_2 = -OCH_3$ ), wykazują wyraźną selektywność wobec receptora 5HT<sub>1A</sub>.

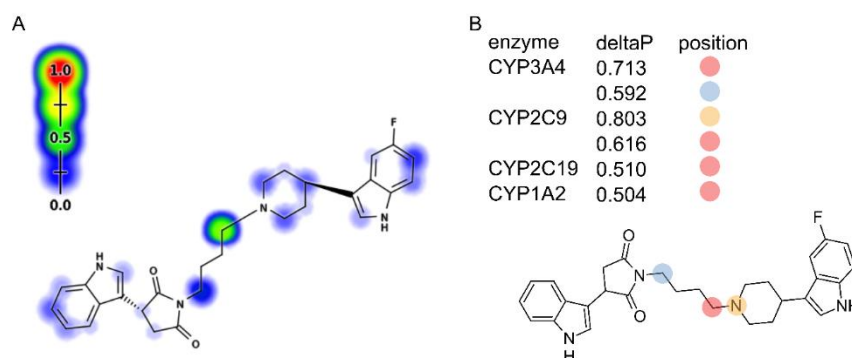
Kolejnym etapem moich prac na była ocena stabilności metabolicznej badanej grupy pochodnych. Badania te były możliwe dzięki mojej współpracy z Katedrą i Zakładem Chemii Farmaceutycznej na Wydziale Farmaceutycznym Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Związki testowałam w badaniu stabilności metabolicznej *in vitro*, z udziałem ludzkich mikrosomów wątrobowych oraz NADPH jako kofaktora pierwszej fazy. Do badania zakwalifikowałam ligandy o najwyższym powinowactwie do 5-HT<sub>1A</sub> ( $K_i$  [nM] < 15: **4a**, **4b**, **4c**, **4j**, **4k** i **4l**) oraz związek **MW005** (**31** w [H2]) - Rysunek 7.



**Rysunek 7** Stabilność metaboliczną wybranych pochodnych, wyrażona jako okres półtrwania w testach *in vitro*.

Pomimo różnic struktury chemicznej: w pozycjach  $R_1$  (-H, -OCH<sub>3</sub>, -F) oraz  $R_2$  (-H, -F, -OCH<sub>3</sub>), związki wybrane do testu stabilności metabolicznej wykazują jedynie niewielkie różnice w stabilności. Jest to zaskakujące ponieważ udokumentowano, że podstawienie pierścienia aromatycznego fluorem może zwiększać stabilność, blokując reakcje utleniania, podczas gdy obecność grupy metoksy zazwyczaj sprzyja reakcji O-dealkilowania, co znacząco obniża stabilność metaboliczną [65]. Dlatego stwierdziłam, że w tym przypadku prawdopodobnie inny element strukturalny jest odpowiedzialny za podatność na metabolizm w pierwszej fazie. Aby wyjaśnić ten nieoczekiwany wynik zastosowałam dwa narzędzia chemoinformatyczne, mianowicie Xenosite i SOMP - Site Of Metabolism Prediction, aby zbadać możliwe przyczyny eksperymentalnych obserwacji [65,66]. Wyniki dla **MW005** podsumowałam na Rysunek 8.



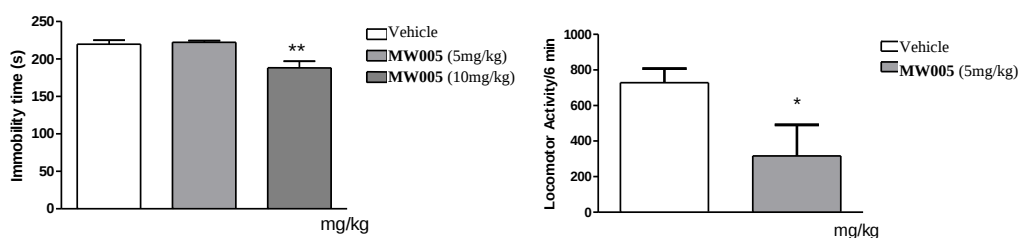
**Rysunek 8** Wyniki przewidywania miejsca metabolizmu *in silico* dla **MW005**. A: Wynik Xenosite przedstawiony graficznie, z paskiem skali kolorów pokazującym prawdopodobieństwo poddania się oksydacji zależnej od CYP (model HLM). B: Wynik SOMP z wybranymi wartościami deltaP dla izoenzymów CYP oraz odpowiadającymi pozycjami w cząsteczce. Stereochemia centrów chiralnych w cząsteczce jest wymuszana przez wewnętrzny algorytm Xenosite i nie mogła być zmieniana.

Za pomocą programu Xenosite, wykorzystując model mikrosomów wątrobowych człowieka do utleniania zależnego od CYP, zidentyfikowałam dwa atomy w łańcuchu alkilowym jako najbardziej prawdopodobne miejsca podatne na biotransformację. Podobnie, program SOMP, wyposażony w różne modele dla izoenzymów CYP, wskazał te same pozycje. W algorytmie SOMP atomy są klasyfikowane na podstawie wartości deltaP, obliczanej jako różnica między prawdopodobieństwami, że atom jest lub nie jest miejscem metabolizmu ( $\text{deltaP} > 0,5$  są pokazane). Biotransformacja wspomnianych miejsc metabolizmu prowadzi do N-dealkilowania, a w konsekwencji degradacji cząsteczki na dwie mniejsze części, co zostało wcześniej wielokrotnie zgłoszone dla podobnych związków [67,68].

Kolejnym kluczowym etapem mojej oceny potencjału badanych pochodnych jako przyszłych antydepresantów były badania *in vivo*, obejmujące test wymuszonej hipotermii oraz test zmuszonego pływania (FST) u myszy. Badania przeprowadziłam dzięki mojej współpracy z Zakładem Neurobiologii Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie dla najbardziej obiecujących związków: **MW005**, **4a**, **4b**, **4c**, **4j**, **4k** i **4l**. Dzięki tym badaniom oznaczyłam ich właściwości agonistyczno-antagonistyczne w odniesieniu do presynaptycznych i postsynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub>, wyniki zebrałam w Tabela 3.

**Tabela 3** Profil funkcjonalny badanych związków wobec receptora 5-HT<sub>1A</sub>.

| symbol       | profil funkcjonalny względem receptora 5-HT <sub>1A</sub> |                               |
|--------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------|
|              | presynaptyczny                                            | postsynaptyczny               |
| <b>MW005</b> | agonista                                                  | agonista                      |
| <b>4a</b>    | agonista                                                  |                               |
| <b>4b</b>    | agonista                                                  | brak agonistycznej aktywności |
| <b>4c</b>    | agonista                                                  |                               |
| <b>4j</b>    | agonista                                                  | brak agonistycznej aktywności |
| <b>4k</b>    | agonista                                                  | brak agonistycznej aktywności |
| <b>4l</b>    | agonista                                                  |                               |



**Rysunek 9** Efekt **MW005** na test zmuszonego pływania (FST) u myszy CD-1 oraz efekt **MW005** na aktywność lokomotoryczną u myszy.

Najważniejszym wynikiem otrzymanym przeze mnie w badaniach *in vivo* był ten dla związku **MW005**, który przy dawce 10 mg/kg, skrócił czas bezruchu w teście FST oraz znacząco zmniejszył aktywność w teście spontanicznej aktywności lokomotorycznej u myszy dlatego mogę go zaklasyfikować jako agonistę presynaptycznego i postsynaptycznego receptora 5-HT<sub>1A</sub> o aktywności przeciwdepresyjnej, Rysunek 9.

Ze względu na obiecujące wyniki *in vivo* dla **MW005**, przeprowadziłam dla niego wczesne testy biodostępności *in vitro* w Eurofins Pharma Discovery Services. Analizowałam rozpuszczalność, wiązanie z białkami osocza i przepuszczalność Caco-2 w celu oceny właściwości ADME. **MW005** wykazał dobrą rozpuszczalność (SIF – 190,6  $\mu$ M, PBS – 136,5  $\mu$ M, SGF – 151,0  $\mu$ M), wysokie wiązanie z białkami osocza (95%) oraz niską przepuszczalność przez Caco-2 (Papp  $\leq$  2,5). Współczynnik ER  $\leq$  2,5 wskazuje, że **MW005** nie jest substratem P-gp, co może mieć znaczenie w kontekście jego potencjalnej biodostępności.

Z uwagi na ryzyko działań niepożądanych ze strony układu sercowo-naczyniowego, oceniłam kardi toksyczność **MW005** w teście patch-clamp dla kanału hERG. Blokada hERG może prowadzić do wydłużenia odstępu QT i arytmii Torsades de Pointes. **MW005** testowałam w stężeniach 10,0, 1,0 i 0,1  $\mu$ M, wykazując odpowiednio 96,4%, 84,7% i 45,1% hamowania prądu tail, co wskazuje na wysoką skłonność do blokowania hERG [69]. Dodatkowo, **MW005**

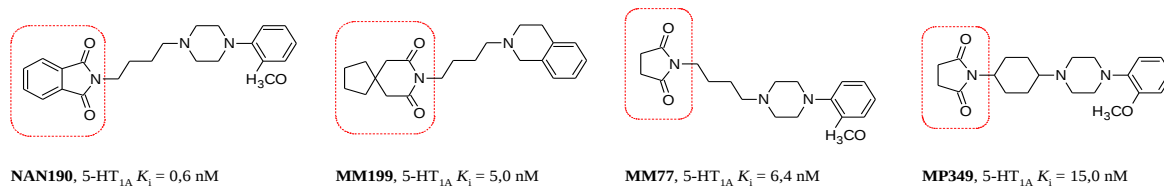
wykazał wysokie powinowactwo do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i  $\alpha_1$  ( $K_i = 7,5 \pm 0,5$  nM i  $K_i = 30 \pm 3$  nM), co może wiązać się z ryzykiem hipotensji [70].

**Podsumowując, przeprowadzone badania i testy pozwoliły mi na wyselekcjonowanie związku MW005 jako najbardziej obiecującego kandydata, łączącego mechanizm wieloreceptorowy, agonizm pre- i postsynaptyczny wobec 5-HT<sub>1A</sub>, dobrą stabilność metaboliczną oraz zależne od dawki skrócenie czasu bezruchu w teście wymuszonego pływania u myszy (FST). Niemniej wyniki badań nad związkiem MW005 dotyczące biodostępności i toksyczności kardiologicznej, uzasadniały konieczność dalszych przeprojektowań struktury wiodącej w celu poprawy właściwości farmakokinetycznych i bezpieczeństwa kardiologicznego.**

[H4] “Synthesis of new 4-butyl-arylpiperazine-3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives and evaluation for their 5-HT<sub>1A</sub> and D<sub>2</sub> receptor affinity and serotonin transporter inhibition.”

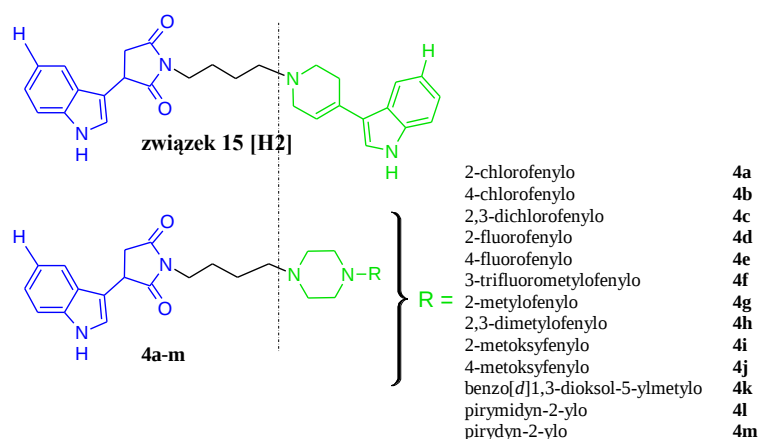
Biorąc pod uwagę bardzo dobre wyniki wiązalności pochodnych pirolidyno-2,5-dionu z receptorem D<sub>2</sub> oraz innymi receptorami serotoninowymi, opisane w [H2] i [H3], a także problem współwystępowania depresji z innymi chorobami OUN, takimi jak schizofrenia, postanowiłam przeprojektować strukturę badanych pochodnych w celu zwiększenia ich powinowactwa do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i D<sub>2</sub>. Jednocześnie zależało mi na zachowaniu polifarmakologicznego profilu receptorowego, co mogłoby poszerzyć potencjalne wskazania terapeutyczne o inne schorzenia OUN. Jako miejsce przeprojektowań struktury wybrałam obszar C (Rysunek 4). Pomimo licznych klas związków o zróżnicowanych szkieletach chemicznych, które zostały opisane jako potencjalne leki przeciwdepresyjne i przeciwpsychotyczne, długołańcuchowe arylopiperazyny (LCAPs) pozostają jednym z najważniejszych układów o wysokim powinowactwie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i D<sub>2</sub> [71,72]. Związki te mają ugruntowaną pozycję jako ligandy receptora 5-HT<sub>1A</sub>, a ich prototypowym przedstawicielem jest bupiron (Rysunek 1) [45,47]. Dzięki przeprojektowaniom strukturalnym cząsteczki buspironu otrzymano do teraz wiele serii związków wykazujących wysokie powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub>. Na przykład, Mokrosz i in. (1995) opisali serię pochodnych 4-(4-sukcynimidobutylo)piperazyny, będących analogami buspironu i NAN190. Spośród nich, za najważniejsze uznano związki MM199, MM77 i MP359 (Rysunek 10) [73–80]. Modyfikacje przez nich opisane miały na celu zwiększenie selektywności receptorowej oraz poprawę właściwości farmakologicznych, co przyczyniło się do dalszego rozwoju prac nad nowymi ligandami receptora 5-HT<sub>1A</sub> w grupie LCAPs mających w strukturze układ

imidowy i były dla mnie wytyczną przy tworzeniu koncepcji nowych pochodnych pirolinyno-2,5-dionu.



**Rysunek 10** Przykłady LCAP (długołańcuchowych arylopiperazyn) z grupami imidowymi w części terminalnej. Wszystkie te związki wykazują wysokie powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> [45].

Mając na uwadze powyższe doniesienia dotyczące LCAPs moim celem badawczym było zaprojektowanie i synteza nowych, leków przeciwpsychotycznych i przeciwdepresyjnych, które działają na receptory dopaminergiczne i serotonergiczne, zachowując zrównoważoną aktywność receptorową dlatego zastąpiłam fragment 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu resztami pochodnych arylopiperazyn. Związki 4a–m (Rysunek 11) otrzymałam według wcześniej zaprojektowanej przeze mnie metody syntezy [H2], co potwierdziło użyteczność tej metody do syntezy innych klas związków chemicznych o aktywności w chorobach OUN.



**Rysunek 11** Struktura związku referencyjnego 15, oraz nowo zsyntetyzowanych długołańcuchowych arylopiperazyn (LCAPs) (4a–m) w grupie pochodnych pirolinyno-2,5-dionu.

Wszystkie otrzymane pochodne 4a–m zbadalam pod kątem ich powinowactwa do receptorów 5-HT<sub>1A</sub>, D<sub>2</sub> i transportera serotoniny. Badania biologiczne *in vitro* zrealizowała dzięki mojej współpracy z Katedrą Farmakobiologii na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Analizując dane literaturowe moją uwagę zwróciły wyniki, które wskazują na znaczące interakcje między podstawnikami halogenowymi w pierścieniu fenylopiperazyny związków

LCAPs a miejscem wiązania receptora 5-HT<sub>1A</sub> [81]. Dokładniej, rola halogenów została niedawno przypisana do stabilizacji kompleksów ligand–receptor poprzez tworzenie specyficznych wiązań halogenowych [82]. Analizowałam wpływ podstawników halogenowych na powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub> otrzymanych związków. Najbardziej aktywne w badanej grupie były *orto*-podstawione fenylopiperazyny (PhPs), zwłaszcza 2-F-PhP **4d** (symbole zgodne z [H4]) ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 0,4 nM). Podstawniki w pozycji *para* obniżały powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub>. Analogi *orto* wykazywały wyższe powinowactwo niż *para* dla każdego rodzaju halogenu: chloro **4a** ( $K_i$  = 1,6) vs. **4b** ( $K_i$  = 25,0), fluoro **4d** ( $K_i$  = 0,4) vs. **4e** ( $K_i$  = 42,0), metoksy **4i** ( $K_i$  = 1,4) vs. **4j** ( $K_i$  = 44,0). Obserwacja ta jest zgodna z wcześniej opublikowanymi danymi, że podstawniki w pozycji *para* powodują niekorzystne interakcje steryczne z miejscem wiązania receptora 5-HT<sub>1A</sub> [74,83,84]. Partyka i in. opisali badania *in silico* dla azinsulfonamidów pochodnych LCAP wskazujące na zaburzenie stabilności kompleksu ligand–receptor (brak interakcji z Asp3.32 w kieszeni wiązania 5-HT<sub>1A</sub>) zarówno dla 4-F-PhP, jak i 4-Cl-PhP [81]. Może to wyjaśniać zaobserwowany przeze mnie spadek powinowactwa badanych związków z podstawnikami *para*. Interesującym zjawiskiem jest to, że *para*-pochodne wykazywały nieco zwiększoną inhibicję SERT, czego efektem były związki o podwójnym powinowactwie do 5-HT<sub>1A</sub>/SERT – **4b** (5-HT<sub>1A</sub>  $K_i$  = 25 nM, SERT  $K_i$  = 26 nM) oraz **4j** (5-HT<sub>1A</sub>  $K_i$  = 44 nM, SERT  $K_i$  = 30 nM).

Otrzymałam związek **4c**, pochodną 2,3-diCl-PhP, którą sklasyfikowałam jako multireceptorowy ligand 5-HT<sub>1A</sub>/D<sub>2</sub>/SERT, wykazujący wysokie powinowactwo do wszystkich tych receptorów ( $K_i$  = 1,6 nM, 64 nM i 183 nM, odpowiednio). Moim wytłumaczeniem tego wyniku jest to, że zgodnie z wcześniejszymi badaniami, podstawniki w pozycjach *orto* i *meta* fenylopiperazyny są preferowane w miejscu aktywnym D<sub>2</sub>R, szczególnie grupy donorowe, takie jak metoksy. Z drugiej strony, niezależnie od ich wielkości, podstawniki w pozycji *para* nie są korzystne dla wiązania D<sub>2</sub>R [85][86]. Šukalović i in. wyjaśniają to jako wynik niekorzystnej interakcji sterycznej podstawników *para* z Phe178, Tyr216 i Trp182 w kieszeni wiązania receptora. W związku z tym formowanie mostka solnego między Asp86 a protonowanym azotem pierścienia piperazyny, który jest kluczowy dla stabilności kompleksu ligand-receptor, jest utrudnione [86].

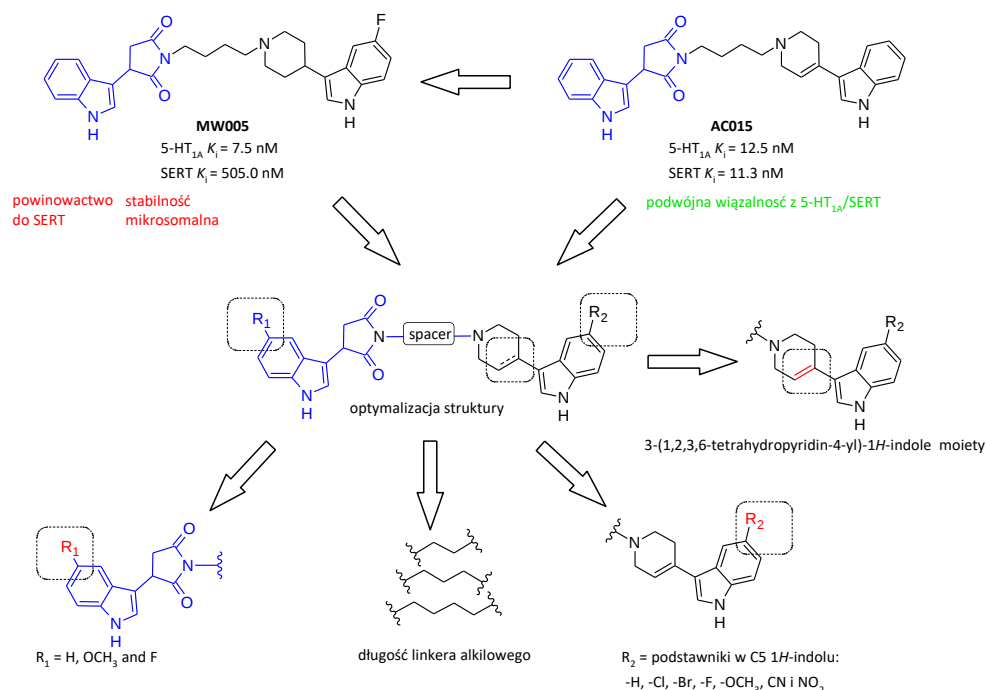
Podsumowując, wszystkie zaprojektowane przeze mnie pochodne **4a–m** wykazały wysokie powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub>, z wartościami  $K_i$  w zakresie od 0,4 do 44,0 nM. Opierając się na danych literaturowych zaproponowałam wytłumaczenie różnic powinowactwa

do receptorów w obrębie badanej serii **4a–m** wynikające z obecności różnych podstawników w układzie arylowym części arylopiperazyny, które pozwoli mi w przyszłości racjonalnie modyfikować ich strukturę wiodącą. **Co ważne otrzymałam związek 4c (symbol zgodny z publikacją [H4]), ligand o wysokim powinowactwie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub>/D<sub>2</sub>/SERT. Związek ten uważam za szczególnie obiecujący w kontekście złożoności zaburzeń OUN oraz ograniczeń wynikających ze stosowanej obecnie dla nich farmakoterapii.**

[H5] “Synthesis and biological evaluation of novel 3-(5-substituted-1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives with a dual affinity for serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor and SERT.”

Zaprojektowana przeze mnie seria 4-butylo-arylopiperazyno-3-(1*H*-indol-3-yl)pirolidyno-2,5-dionu [H4] umożliwiła mi otrzymanie związków o bardzo wysokim powinowactwie do receptor 5-HT<sub>1A</sub> (związek **4d** (symbol zgodny z publikacją [H4]) ( $K_i = 0,4$  nM)), dążąc jednak to otrzymania związków o bardzo wysokim podwójnym powinowactwie 5-HT<sub>1A</sub>/SSRI na podstawie wyników dla serii opisaney w [H3] zdecydowałam się kontynuować badania nad pochodnymi pirolidyno-2,5-dionu zawierającymi układ 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu.

W wyniku wcześniejszych badań wytypowałam najbardziej obiecujące związki, **MW005** i **AC015** (Rysunek 12) opisane w [H2] i [H3]. **MW005** wykazywał mechanizm działania oparty na polifarmakologicznym profilu, z wyraźnym działaniem agonistycznym na pre- i postsynaptyczne receptory 5-HT<sub>1A</sub> jednak charakteryzował się niskim powinowactwem do SERT i niską stabilnością mikrosomalną. Z kolei wyniki badań *in vitro* dla związku **AC015** - Rysunek 12 (związek **15** w [H2]), zawierającego resztę 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu, potwierdziły jego podwójne powinowactwo 5-HT<sub>1A</sub>/SERT, niemniej powinowactwo to nie było tak wysokie jak w przypadku wilazodonu i wortioksetyny. Dlatego projektując dalsze modyfikacje moim celem było zwiększenie powinowactwa do SERT, przy jednoczesnym zachowaniu wysokiego powinowactwa do 5-HT<sub>1A</sub> oraz zwiększenie stabilności mikrosomalnej.



**Rysunek 12** Projektowanie nowych związków o podwójnej aktywności 5-HT<sub>1A</sub>/SERT. Związki referencyjne AC015 [H2] i MW005 [H3].

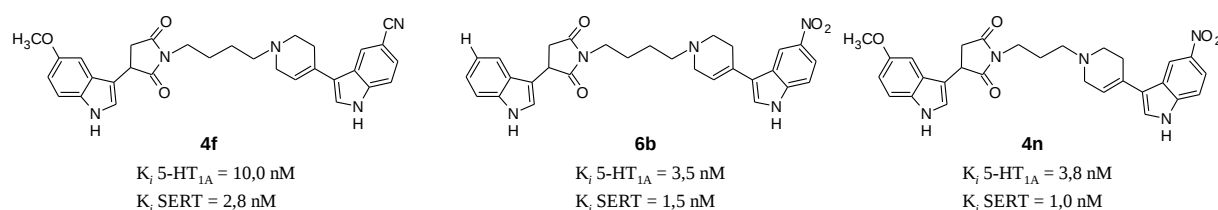
Zsyntetyzowałam serię pochodnych 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidyno-2,5-dionu zawierających resztę 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu: **4a–u** (R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>), **5a–p** (R<sub>1</sub> = -F) i **6a–f** (R<sub>1</sub> = -H), symbole zgodne z publikacją [H5]. Wprowadziłam kilka modyfikacji chemicznych struktury wiodącej, obejmujących:

- wprowadzenie dwu-, trój- lub czterowęglowego łącznika;
- podstawienie grupą metoksy (-OCH<sub>3</sub>) lub fluoro (-F) w pozycji C-5 układu 1*H*-indolu (R<sub>1</sub>);
- różne podstawienia w części 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu (R<sub>2</sub> = -H, -Cl, -Br, -F, -OCH<sub>3</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>) Rysunek 12.

Zsyntezowane przeze mnie pochodne poddałam ocenie ich powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz zdolności do inhibicji wychwytu zwrotnego serotoniny (SERT) dzięki mojej współpracy z Katedrą Farmakobiologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Mając na uwadze, że nowoczesna strategia leczenia depresji wymaga poszukiwania leków o wieloreceptorowym profilu farmakologicznym [87], wybrane związki przebadałam pod kątem ich powinowactwa do receptorów D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub> we współpracy z Zakładem Chemii Leków Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie, a także poddałam testom metabolicznej stabilności oraz testom *in vivo* (badania wykonane we współpracy z Zakładem Neurobiologii Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie), umożliwiającym

mi określenie ich właściwości agonistycznych i antagonistycznych względem pre- i postsynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub>.

Planując strukturę badanej serii związków, na podstawie moich wcześniejszych wyników i wniosków z badań opisanych w [H2] oraz [H3], wprowadziłam nowy rodzaj podstawnika R<sub>2</sub> do układu 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu, czyli podstawienie grupą -CN lub -NO<sub>2</sub>, które znacząco, w niektórych przykładach aż ponad siedmiuset krotnie, poprawiło powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub> i/lub SERT. Było to szczególnie widoczne w parach analogów z łańcuchem trzywęglowym np.: **4h** (R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -H) (symbole zgodne z publikacją [H5]) K<sub>i</sub> SERT = 782,0 nM vs **4n** (R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -NO<sub>2</sub>) K<sub>i</sub> SERT = 1,0 nM.



**Rysunek 13** Pochodne 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidyno-2,5-dionu [H5] o najlepszym podwójnym powinowactwie do 5-HT<sub>1A</sub> i SERT.

Związki z czterometylenowym łącznikiem **4f** (R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -CN) (K<sub>i</sub> 5-HT<sub>1A</sub> = 10,0 nM, K<sub>i</sub> SERT = 2,8 nM) i **6b** (R<sub>1</sub> = -H, R<sub>2</sub> = -NO<sub>2</sub>) (K<sub>i</sub> 5-HT<sub>1A</sub> = 3,5 nM, K<sub>i</sub> SERT = 1,5 nM), oraz związek z trzymetylenowym łącznikiem, **4n** (R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = -NO<sub>2</sub>) (K<sub>i</sub> 5-HT<sub>1A</sub> = 3,8 nM, K<sub>i</sub> SERT = 1,0 nM) - Rysunek 13, wykazały najlepsze podwójne powinowactwo do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i SERT. **Zaplanowane przeze mnie modyfikacje struktury wiodącej dla badanych serii 4a–u** (R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>), **5a–p** (R<sub>1</sub> = -F) i **6a–f** (R<sub>1</sub> = -H) **pozwoły mi otrzymać pochodne o powinowactwie w badaniach *in vitro* porównywalnym lub lepszym od zarejestrowanych leków przeciwdepresyjnych z grupy SPARI - wilazodon i MTDL – wortioksetyna Rysunek 1.**

Podsumowując, moja analiza SAR wpływu podstawnika R<sub>2</sub> na aktywność pozwoliła na wysunięcie następujących wniosków: związki z grupami fluoro (-F), cyjano (-CN) lub nitro (-NO<sub>2</sub>) wykazywały poprawę powinowactwa do SERT, co było szczególnie wyraźne w serii z łańcuchem propanowym (seria **4** posiada R<sub>1</sub> = -OCH<sub>3</sub>), jak ilustrują następujące przykłady: **4h** (H) K<sub>i</sub> SERT = 782,0 nM vs **4k** (F) K<sub>i</sub> = 16,2 nM lub **4m** (CN) K<sub>i</sub> = 33,0 nM lub **4n** (NO<sub>2</sub>) K<sub>i</sub> = 1,0 nM. Początkowe moje obserwacje z badania symulacji dokowania molekularnego przeprowadzonych dla piętnastu pochodnych 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidyno-2,5-dionu [H2] wykazały brak związku między elektroujemnością podstawienia w pozycji R<sub>2</sub> powinowactwem ligandu z SERT, sugerując, że interakcja ta jest silnie zdominowana przez czynniki steryczne [H2]. Moje dalsze badania w większej liczbie (w sumie pięćdziesiąt osiem) pochodnych 3-(1*H*-

indol-3-yl)pyrrolidyno-2,5-dionu tylko częściowo potwierdziły te wyniki, ponieważ powinowactwo do SERT maleje wraz ze wzrostem rozmiaru podstawienia halogenowego (**4a** (H)  $K_i = 2,6$  nM vs **4d** (F)  $K_i = 6,3$  nM vs **4b** (Cl)  $K_i = 53,4$  nM vs **4c** (Br)  $K_i = 31,2$  nM). Z drugiej strony stwierdziłam że, obecność dużych podstawników, takich jak -CN i -NO<sub>2</sub>, w pozycji R<sub>2</sub> nie powoduje spadku powinowactwa do SERT; wręcz przeciwnie, powinowactwo do SERT jest porównywalne lub nawet wyższe niż w przypadku niepodstawionych analogów. Moim wytłumaczeniem tej obserwacji jest to, że badania innych grup sugerują że elektroujemne podstawienia przy pierścieniu indolowym mogą być preferowane w miejscu wiązania transportera [54].

Następnie nowo zaprojektowane związki badałam pod kątem ich powinowactwa do receptorów 5-HT<sub>1A</sub>/D<sub>2</sub>, skoncentrowałam się na pochodnych z podstawnikami -CN lub -NO<sub>2</sub> w pozycji R<sub>2</sub>, ponieważ wykazywały one najlepsze podwójne wiązanie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub>R i SERT. Wszystkie testowane związki charakteryzowały się wysokim powinowactwem do receptora D<sub>2</sub>, z wartościami  $K_i$  w zakresie od 8,0 nM do 99,0 nM. Najkorzystniejszy profil wykazywały pochodne zawierające czterowęglowy łącznik, ponieważ miały wysokie powinowactwo zarówno do receptorów D<sub>2</sub>, jak i 5-HT<sub>1A</sub>: **4m** (R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = CN) ( $K_i$  D<sub>2</sub> = 20,0 nM), **5m** (R<sub>1</sub> = F, R<sub>2</sub> = CN) ( $K_i$  D<sub>2</sub> = 8,0 nM), **5n** (R<sub>1</sub> = F, R<sub>2</sub> = NO<sub>2</sub>) ( $K_i$  D<sub>2</sub> = 21,0 nM).

Badania sugerują, że antagoniści receptora 5-HT<sub>6</sub>, którzy działają jako odwrotni agoniści i antagoniści neutralni, poprawiają funkcje poznawcze [88]. Możliwość połączenia działania przeciwdepresyjnego (ADD) z prokognitywną aktywnością ligandów 5-HT<sub>6</sub> może być korzystne w leczeniu depresji [89]. Ponieważ związki z -CN w pozycji R<sub>2</sub> działały nieco lepiej niż te z -NO<sub>2</sub>, zweryfikowałam ich potencjał jako wielocelowych ligandów, testując ich powinowactwo do receptorów 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub> oraz  $\alpha_1$ . Związek **5f** charakteryzował się najkorzystniejszym wielocelowym profilem receptorowym *in vitro*, z wartościami:  $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 5,0 nM,  $K_i$  5-HT<sub>6</sub> = 38,0 nM,  $K_i$  5-HT<sub>7</sub> = 132,0 nM. **Jest to znacząca poprawa względem wcześniejszych serii i potwierdzenie dobrego kierunku badawczego w kontekście związków o polifarmakologicznym profilu receptorowym.**

Na koniec zbadałam powinowactwo wybranych związków do receptora  $\alpha_1$  ( $\alpha_1$ R). Pomimo różnych funkcji farmakologicznych,  $\alpha_1$ R i 5-HT<sub>1A</sub>R mają wspólne cechy strukturalne w miejscach wiązania, co powoduje, że wiele ligandów 5-HT<sub>1A</sub>R wykazuje również wysokie powinowactwo do  $\alpha_1$ R. Wadą takiego działania może być ryzyko wystąpienia skutków ubocznych ze strony układu sercowo-naczyniowego w przypadku związków nieselektywnych [90]. Związek referencyjny **MW005** wykazywał wysokie powinowactwo do receptorów 5-

HT<sub>1A</sub> i  $\alpha_1$  ( $K_i = 7,5$  nM oraz  $K_i = 30,0$  nM, odpowiednio) [H3]. **Zaproponowana przeze mnie modyfikacja polegająca na zastąpieniu fragmentu 3-piperydino-4-ylo-1H-indolu przez 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydino-4-ylo)-1H-indol poprawiła selektywność względem 5-HT<sub>1A</sub>R.** Wszystkie testowane związki wykazywały umiarkowane do niskiego powinowactwo do  $\alpha_1$ R, z wartościami  $K_i$  w zakresie od 156,0 nM do 1826,0 nM. Co potwierdza mniejsze prawdopodobieństwo działań niepożądanych ze strony układu krążenia.

W kolejnym etapie oceniłam czy badane pochodne będą miały lepszą stabilność mikrosomalną. Związki o największym potencjale testowałam z użyciem ludzkich mikrosomów wątroby i NADPH jako kofaktora. Wszystkie testowane związki wykazały wysoką stabilność w ludzkich mikrosomach, z wartościami klirensu wewnętrznego ( $CL_{int}$ ) poniżej 115 [ $\mu$ L/min/mg] oraz okresem półtrwania ( $t_{1/2}$ ) powyżej 60 minut. Dane te sugerują wysoką stabilność metaboliczną i niskie ryzyko znaczącego efektu pierwszego przejścia [91]. W celu dalszej analizy zdecydowałam się przebadąć związek **MW005** [H3] w tym samym eksperymencie, aby sprawdzić, czy obecność reszty 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1H-indolu wpływa na biotransformację w grupie pochodnych 3-(1H-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu. Wyniki wykazały znaczącą różnicę w  $t_{1/2}$  między **MW005** ( $t_{1/2} = 31$  min,  $CL_{int} = 222,8$  [ $\mu$ L/min/mg]) a pozostałymi badanymi związkami (średnie  $t_{1/2} = 171$  min). **Otrzymane dane pozwoliły mi stwierdzić, że obecność fragmentu 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydino-4-ylo)-1H-indol ma istotne znaczenie dla stabilności metabolicznej.**

Ze względu na najbardziej obiecujące wyniki *in vitro*, wyselekcjonowane związki badałam w modelach *in vivo* powszechnie stosowanych do oceny funkcjonalnej aktywności receptora 5-HT<sub>1A</sub>. Wyniki podsumowano w Tabeli 4.

**Tabela 4** Profil funkcjonalny badanych związków [H5] wobec receptora 5-HT<sub>1A</sub>.

| symbol    | profil funkcjonalny względem receptora 5-HT <sub>1A</sub> |                                  |
|-----------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------|
|           | presynaptyczny                                            | postsynaptyczny                  |
| <b>4a</b> | brak agonistycznej aktywności                             | agonista                         |
| <b>4b</b> | brak agonistycznej aktywności                             | agonista                         |
| <b>4c</b> | agonista                                                  | brak agonistycznej aktywności    |
| <b>4d</b> | brak agonistycznej aktywności                             | agonista                         |
| <b>4f</b> | brak agonistycznej aktywności                             | agonista                         |
| <b>5d</b> | agonista                                                  |                                  |
| <b>6c</b> | antagonista                                               | brak antagonistycznej aktywności |

Korelacja powyższych wyników ze strukturą chemiczną badanych związków wskazuje na istnienie zależności między rodzajem podstawienia R<sub>1</sub> a funkcjonalną aktywnością receptorową 5-HT<sub>1A</sub>R. Związki **4a**, **4b**, **4c**, **4d** i **4f**, zawierające grupę metoksy w pozycji R<sub>1</sub>, wykazują

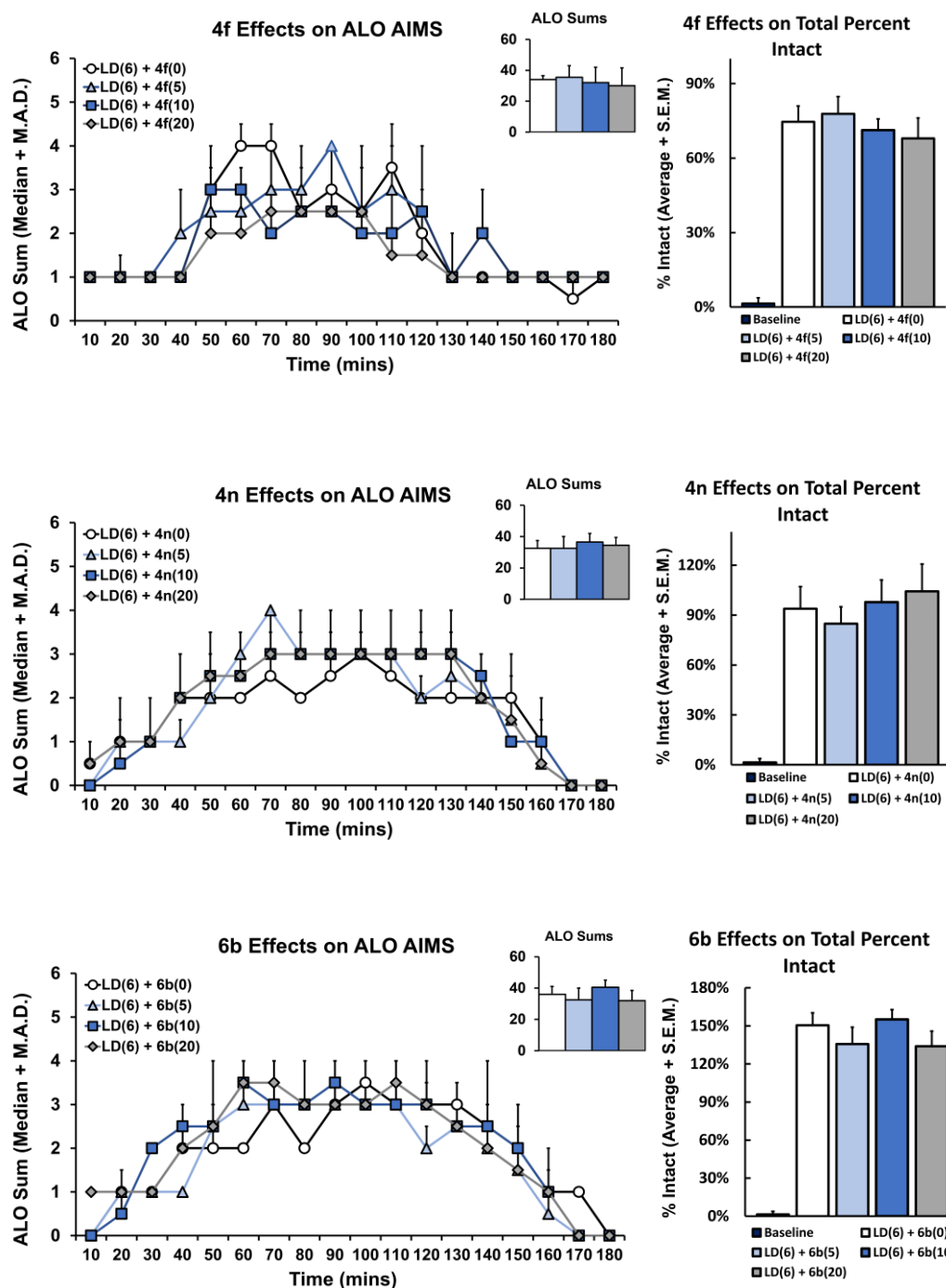
działanie agonistyczne na receptor 5-HT<sub>1A</sub>, podczas gdy związek **6c**, niepodstawiony w pozycji R<sub>1</sub>, nie wykazuje wpływu na temperaturę ciała myszy w teście hipotermii indukowanej.

Spśród wszystkich przebadanych związków opisanych w [H5], 3-(1-(4-(3-(5-metoksy-1*H*-indol-3-yl)-2,5-diokspirrolidyno-1-yl)butylo)-1,2,3,6-tetrahydropirydyno-4-yl)-1*H*-indolo-5-karbonitryl (**4f**) wytypowałam jako najbardziej obiecujący ze względu na jego profil wiązania receptorowego w testach *in vitro*, dobrą stabilność mikrosomalną oraz aktywność agonistyczną wobec receptora 5-HT<sub>1A</sub>.

Opisane wyniki okazały się na tyle ciekawe, że po opublikowaniu artykułu [H5] skontaktował się ze mną prof. Christopher Bishop i dr Michael Coyle z Wydziału Psychologii, Uniwersytetu Binghamton z Nowego Jorku USA z propozycją współpracy. W ramach umowy resyntetyzowałam najbardziej obiecujące związki **4f**, **4n** oraz **6b** (symbole zgodne z publikacją [H5]) w skali 500 mg, które zgodnie z umową o współpracy naukowej, wysłałam na testy *in vivo* choroby Parkinsona w modelu szczurzym. Wstępne wyniki tych badań zostały zaprezentowane na konferencji Neuroscience w Chicago 5-9 października 2024, Sesja PST267 – „Parkinson’s Disease: Dopamine and Non-Dopamine Pathways”.

Choroba Parkinsona (PD) to postępujące neurodegeneracyjne zaburzenie ruchowe wynikające z utraty neuronów dopaminergicznych (DA) w szlaku nigrostriatalnym, prowadzące do sztywności, drżenia i bradykinezy. Chociaż lewodopa (L-DOPA) jest powszechnie przepisywana jako złoty standard terapii w celu łagodzenia deficytów motorycznych, jej długotrwałe stosowanie może prowadzić do wystąpienia niepożądanych efektów, w tym nieprawidłowych, mimowolnych ruchów (AIMS), znanych jako dyskinezy wywołane L-DOPĄ (LID). Wcześniejsze badania sugerują, że związki wykazujące powinowactwo do receptora serotoninowego 5-HT<sub>1A</sub>, transportera serotoniny oraz receptora dopaminowego D<sub>2</sub> mogą redukować LID, jednocześnie utrzymując skuteczność motoryczną L-DOPY. W badaniu przedklinicznym we współpracy oceniliśmy skuteczność nowych związków **4f**, **4n** i **6d**, wykazujących zróżnicowane powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub>R, SERT i D<sub>2</sub>R, w redukcji LID

Rysunek 14.



**Rysunek 14** Szczury z ustabilizowanym LID (N=8, 4 samce, 4 samice) były traktowane związkiem **4f** lub **4n** lub **6b** (0, 5, 10, 20 mg/kg, i.p.) na 30 minut przed podaniem L-DOPY (6 mg/kg, s.c.), a następnie poddane testom AIMS i FAS. **4f**, **4n** i **6b** nie zmniejszyły AIMS w żadnej z testowanych dawek ale L-DOPA poprawiła chodzenie, a efekt ten został utrzymany po podaniu **4f**, **4n** lub **6b**. Wyniki FAS wyrażono jako całkowity procent wartości nienaruszonych [(liczba kroków uszkodzoną przednią łapą i grzbietem / liczba kroków nieuszkodzoną przednią łapą i grzbietem) × 100] i przedstawiono jako średni % wartości nienaruszonych oraz błąd standardowy średniej (S.E.M.).

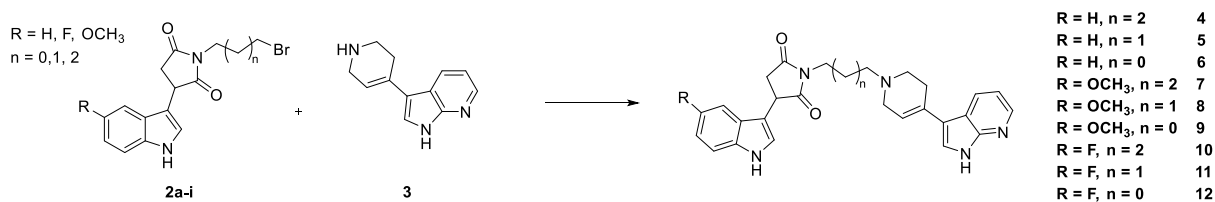
W eksperymentach związki **4f**, **4n** i **6b** (0, 5, 10, 20 mg/kg, i.p.) podawaliśmy w sposób zrównoważony w układzie wewnątrzsobniczym, a ocenie poddano AIMS oraz test FAS w celu określenia zmian w LID oraz skuteczności motorycznej. Niestety wbrew naszej hipotezie, **4f**,

**4n** i **6b** nie zmniejszyły ustabilizowanych AIMs w modelu szczura, ale utrzymały zdolność L-DOPY do poprawy chodzenia Rysunek 14. Prawdopodobnie powinowactwo związków **4f**, **4n** i **6b** do receptora D<sub>2</sub> może mieć złożony wpływ na dyskinezę, ponadto, związki **4f**, **4n** i **6b** wykazują niewielką aktywność presynaptyczną wobec receptora 5-HT<sub>1A</sub>R, co może wpływać na ich skuteczność przeciwdyskinezyjną.

**Aktualnie kontynuuję badania w ramach dalszej współpracy z Uniwersytetem w Binghamton z Nowego Jorku aby zrozumieć unikalne różnice między wortioksetyną, 4f, 4n i 6b co pozwoli mi określić kluczowe kombinacje terapeutyczne w grupie związków o polifarmakologicznym profilu, które mają największy potencjał w leczeniu choroby Parkinsona. Powyższa współpraca potwierdza zainteresowanie innych ośrodków badawczych zaprojektowanymi przeze mnie pochodnymi oraz innowacyjność kierunku badań nad skuteczną farmakoterapią chorób OUN.**

[H6] “Design and synthesis of potential multi-target antidepressants: exploration of 1-(4-(7-azaindole)-3,6-dihydropyridin-1-yl)alkyl-3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidine-2,5-dione derivatives with affinity for the serotonin transporter.”

Rozwijając badania nad grupą pochodnych 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidyno-2,5-dionu o podwójnym wiązaniu do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT, zdecydowałam się na zbadanie modyfikacji struktury wiodącej, która obejmowała obszar C cząsteczki. Dotychczas analizowałam wpływ obecności lub braku wiązania podwójnego w pierścieniu 3-piperydino-4-yl-1*H*-indolowym [H2], wpływ wprowadzenia różnych podstawników elektronodonorowych i elektronoakceptorowych w pozycji C5 indolu w części 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolowej oraz w części 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidyno-2,5-dionowej [H3][H5], a także wprowadzenie w obszarze C układu LCAPs – farmakoforu 5-HT<sub>1A</sub>R [H4]. Mając na uwadze koncepcję opracowania ligandów wielocelowych (MTDLs) o wysokim powinowactwie do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz SERT, zdecydowałam się na zastąpienie ugrupowania 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolowego ugrupowaniem 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pirydynowym Schemat 3. Według Mewshawa i wsp. [92] taka zamiana w farmakoforowej części cząsteczki może potencjalnie zwiększyć jej powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz selektywność względem  $\alpha_1$ -adrenoreceptora [93].



**Schemat 3** Metoda syntezy badanych związków pochodnych 1-(4-(7-azaindol)-3,6-dihydropirydyn-1-yl)alkilo-3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu (4–12).

Pochodne azaindolu są znane ze swojej znaczącej aktywności biologicznej; stosuje się je jako skuteczne bioizostery układów indolowych i purynowych [94][93]. Azaindole występują w postaci czterech izomerów pozycyjnych: 4-, 5-, 6- i 7-azaindolu [93]. Podstawienie rdzenia indolowego azaindolem jest strategicznym podejściem do modulowania kluczowych właściwości związku, takich jak rozpuszczalność, p*K*<sub>a</sub>, lipofilowość, wiązanie z celem molekularnym oraz profil ADME-Tox. Dzięki temu modyfikacja ta stanowi cenne narzędzie w procesie odkrywania leków [95][96].

Co istotne, badania wskazują na potencjał 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pirydyn (7-azaindoli) jako ligandów dla receptorów dopaminowych D<sub>2</sub> i D<sub>4</sub> [97] oraz receptorów serotoninowych 5-HT<sub>6</sub>/5-HT<sub>2A</sub> [98]. Ponadto, 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-pirolo[2,3-*b*]pirydyny były badane pod kątem działania przeciwdrgawkowego [99]. Dodatkowo, wykorzystując trójwymiarowe (3D) modele białek MAT oraz narzędzia obliczeniowe oparte na strukturze udowodniono, że pochodne 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-indolu działają jako ligandy MAT [98]. Sugeruje to, że ich bioizoster 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-yl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pirydyna może wykazywać podobną aktywność jako inhibitor wychwytu zwrotnego serotoniny, noradrenaliny i dopaminy (SNDRI).

W ramach badań zaprojektowałam i zsyntetyzowałam serię pochodnych 4–12 Schemat 3 (symbole zgodne z publikacją [H6]), poddałam je ocenie pod kątem powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i inhibicji wychwytu zwrotnego serotoniny. Następnie testowałam wybrane związki pod kątem ich wiązania z receptorami D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub>, a także ich powinowactwa do transporterów DAT i NET. Przeprowadzone przeze mnie badania miały na celu ocenę, czy zaprojektowane związki wykazują ulepszony profil terapeutyczny dzięki oddziaływaniu na wiele receptorów monoaminowych i transporterów, co zwiększa ich potencjalną skuteczność jako wielocelowych leków przeciwdepresyjnych (MTDLs).

Wszystkie związki oceniłam w badaniach radioreceptorowych *in vitro*, które zostały zrealizowane dzięki współpracy z Zakładem Neurobiologii Instytutu Farmakologii Polskiej

Akademii Nauk i Katedrą Farmakobiologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie.

Związki **4–12** (symbole zgodne z publikacją [H6]) wykazały dobrą do umiarkowanej wiązalność z SERT ( $K_i$  = od 9,2 do 254,0 nM). Najwyższą inhibicję SERT zaobserwowałam dla związków **4** ( $K_i$  = 47,0 nM), **8** ( $K_i$  = 23,0 nM) i **11** ( $K_i$  = 9,2 nM). Niemniej, pochodne 7-azaindolu wykazały spadek powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> w porównaniu do ich analogów 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu [H2][H5].

Moja analiza wyników badań *in vitro* dla związków z grupy 7-azaindoli (**4–12**) wskazuje, że zastąpienie fragmentu 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu przez 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-pirolo[2,3-*b*]pirydynę zazwyczaj skutkuje obniżeniem powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz transportera serotoniny (SERT). Jedynie związek **11** wykazał wysoką podwójną wiązalność z 5-HT<sub>1A</sub>R i SERT, z wartościami  $K_i$  wynoszącymi odpowiednio 128,0 nM i 9,2 nM. Podstawienie w pozycji R w układzie 3-(1*H*-indol-3-yl)pyrrolidyno-2,5-dionów okazało się korzystne dla serii **4–12**. Jednakże, porównując powinowactwo do 5-HT<sub>1A</sub> oraz SERT dla najbardziej obiecujących związków – **8**, **10** i **11** – z ich analogami zawierającymi 1*H*-indol, nadal obserwowałam jego spadek. Sugeruje to, że choć podstawienie w pozycji R może sprzyjać wiązaniu z receptorami 5-HT<sub>1A</sub> i SERT, a trzymetylowy łącznik zwiększa powinowactwo do SERT w obrębie serii **4–12**, to obecność reszty 1*H*-pirolo[2,3-*b*]pirydyny generalnie prowadzi do osłabienia tej interakcji. Warto zaznaczyć, że wyniki, które uzyskałam dla badanej serii pochodnych piroolidyno-2,5-dionu **4–12**, nie są zgodne z wynikami opublikowanymi przez innych badaczy, dotyczącymi wpływu zamiany reszty 1*H*-indolu na 7-azaindol. Zhou i in. [100] oraz Mewshaw i in. [92] wykazali, że taka zamiana prowadzi do utraty lub spadku powinowactwa do SERT przy zachowaniu silnego powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub>, dlatego opisana przeze mnie obserwacja wzbogaca wiedzę na temat wpływu obecności układu 7-azaindolu na aktywność biologiczną związków co może być wskazówką przy projektowaniu nowych leków działających na układ serotonergiczny.

Mając na uwadze koncepcję projektowania leków przeciwdepresyjnych o działaniu wielokierunkowym, ze względu na ich wysokie powinowactwo do SERT, związki **4**, **8**, **11** i **20** (analog 1*H*-indolu związku **11**[H6] o symbolu **5h** w publikacji[H5]) zbadalam pod kątem ich wiązania z receptorami D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub>. Następnie określiłam powinowactwo związków **4**, **6**, **8**, **9**, **11** i **12** do transporterów monoaminowych (MATs). Celem

przeprowadzonych przeze mnie badań była ocena, czy związki z serii pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu, zawierające resztę 7-azaindolu (**4–12**), mogą wykazywać ulepszony profil terapeutyczny poprzez oddziaływanie na wiele receptorów i transporterów, co potencjalnie zwiększałoby ich skuteczność jako leków przeciwdepresyjnych. W celu sprawdzenia możliwych działań niepożądanych o podłożu sercowo-naczyniowym przeprowadziłam również ocenę powinowactwa wybranych związków do receptora  $\alpha_1$ -adrenergicznego. Wyniki wykazały, że zastąpienie 1*H*-indolu przez 7-azaindol skutkowało znacznym obniżeniem powinowactwa badanych związków do receptorów 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> i 5-HT<sub>7</sub>. Otrzymane dane sugerują, że fragment 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu aktywności wiązania z tymi receptorami serotoniny.

Ważnym moim spostrzeżeniem jest fakt, że pomimo utraty powinowactwa do receptorów serotoninowych, badane pochodne **4**, **8**, **11** wykazały wysoką wiązalność z receptorem dopaminowym D<sub>2</sub>, z wartościami  $K_i$  w zakresie od 13,0 nM do 78,0 nM. Zmiany strukturalne, takie jak modyfikacja długości łańcucha alkilowego czy zastąpienie fragmentu 1*H*-indolu resztą 7-azaindolu, nie miały istotnego wpływu na ich powinowactwo do receptora D<sub>2</sub>. Warto zaznaczyć, że różne podstawniki w pozycji R wpływały na zdolność wiązania z tym receptorem. Związek **8**, zawierający podstawnik R = -OCH<sub>3</sub>, wykazał najwyższe powinowactwo do D<sub>2</sub> ( $K_i$  = 13,0 nM). **Otrzymane przeze mnie wyniki wiązalności z receptorem D<sub>2</sub> dla 4–12 sugerują, że kluczową rolę w interakcji z tym receptorem w testowanej serii odgrywa fragment 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu, a efektywność wiązania z D<sub>2</sub> pozostaje niezmienną niezależnie od modyfikacji w obrębie układu 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu – obszar C molekuly.** Takie wnioski mogą wyjaśniać rozbieżności moich wyników w porównaniu z wynikami uzyskanymi dla innych grup pochodnych, gdzie zastąpienie 1*H*-indolu 7-azaindolem prowadziło do utraty powinowactwa do receptora D<sub>2</sub>, jak to wykazali Kulagowski et al. [97] i Staroń et al. [88].

Większość testowanych przeze mnie związków wykazała umiarkowane powinowactwo do receptora  $\alpha_1$ , co może być korzystne z perspektywy profilu bezpieczeństwa. Wyjątek stanowił związek **4**, który wykazywał wyraźnie wyższe powinowactwo, potencjalnie zwiększając ryzyko działań niepożądanych.

Następnie oceniłam powinowactwo związków **4**, **6**, **8**, **9**, **11** i **12** do transporterów dopaminy (DAT) oraz noradrenaliny (NET). Jak opisałam w rozdziale 3.3.1, istnieje ugruntowana koncepcja poszukiwania leku przeciwdepresyjnego w grupie SNDRI, który

jednocześnie modulowałyby poziomy serotoniny (5-HT), noradrenaliny (NA) i dopaminy (DA) [26]. Trudność w rozwoju potencjału terapeutycznego SNDRI polega na osiągnięciu optymalnej równowagi w inhibicji SERT, NET i DAT. Dokładny optymalny stosunek między inhibicją tych trzech transporterów nie jest w pełni wyjaśniony; jednakże, siła powinowactwa w badaniu *in vitro* powinna być w szeregu SERT > NET > DAT [26]. Jest dobrze udowodnione, że zbyt wysoka inhibicja NET może prowadzić do niepożądanych efektów sercowo-naczyniowych, podczas gdy wysoka inhibicja DAT może prowadzić do potencjalnych efektów wzmacniających, ryzyko uzależnienia, a także stymulacji motorycznej i stereotypii [26]. W związku z tym powszechnie uważa się, że idealny profil SNDRI powinien charakteryzować się wyższą inhibicją SERT niż NET oraz umiarkowaną inhibicją DAT. Wyniki z ostatnich badań sugerują, że optymalny profil receptorowy to odpowiednio zajęty przez ligand SERT, NET i DAT na poziomie  $\geq 80\%$ ,  $50\%-70\%$  i  $\leq 30\%$  w teście *in vivo*. Ta równowaga jest ważna dla otrzymania skutecznego SNDRI, z wysokim prawdopodobieństwem korzyści terapeutycznych przy jednoczesnym zmniejszeniu ryzyka niepożądanych efektów [101].

**Wyniki moich badań pokazały, że związki 4 i 11 wykazują najbardziej pożądany profil wiązania do SERT/NET/DAT wśród całej serii odpowiednio:  $K_i = 47,0 \text{ nM}/167,0 \text{ nM}/43\%$  oraz  $K_i = 9,2 \text{ nM}/40\%/288,0 \text{ nM}$ , co stanowi ważne uzupełnienie wiedzy na temat potencjału pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu jako leków w grupie MTDLs.**

Prace badawcze opisane w cyklu [H1] – [H6] finansowane były w ramach projektów:

- „Synteza nowych pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu związków o podwójnej wiązalności do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT”

Źródło finansowania: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Nazwa konkursu: Projekt Młodego Badacza

Numer rejestracyjny: FW26/PM31D/12

Kierownik: dr Martyna Zofia Wróbel

- „Synteza nowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu potencjalnych antydepresantów”

Źródło finansowania: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Nazwa konkursu: Projekt Młodego Badacza

Numer rejestracyjny: FW26/PM31D/13

Kierownik: dr Martyna Zofia Wróbel

- „Synteza nowych arylopierazynowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu ligandów serotoninowego receptora 5-HT<sub>1A</sub>”

Źródło finansowania: Warszawski Uniwersytet Medyczny

Nazwa konkursu: Projekt Młodego Badacza

Numer rejestracyjny: FW26/PM1/17/17

Kierownik: dr Martyna Zofia Wróbel

- „Oznaczenie profilu receptorowego heterocyklicznych pochodnych piperazyny-związków o potencjalnie wielokierunkowym działaniu terapeutycznym na ośrodkowy układ nerwowy”

Źródło finansowania: Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój

Nazwa konkursu: Inkubator Innowacyjności II+ 2018

Kierownik: dr Martyna Zofia Wróbel

- „Synteza i biologiczna aktywność pochodnych pirolidyno-2,5-dionu o potencjalnym działaniu przeciwdepresyjnym”

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki

Nazwa konkursu: OPUS

Numer rejestracyjny: 2013/09/B/NZ7/00748

Kierownik: dr Andrzej Chodkowski

Wykonawca: dr Martyna Zofia Wróbel

### Pozostałe publikacje powiązane z cyklem

Część moich prac badawczych powiązanych tematycznie z cyklem [H1] – [H6] została również opublikowana w czasopismach recenzowanych [D1] – [D3], jednak udział mojej osoby w tych pracach uważam za odpowiednio mniejszy lub też ich tematyka odbiega nieco od głównego nurtu prac [H1] – [H6].

D1. Novel 4-aryl-pyrido[1,2-c]pyrimidines with dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> activity. Part 5, Gomółka, A.; Ciesielska, A.; **Wróbel, M.Z.**; Chodkowski, A.; Kleps, J.; Dawidowski, M.; Siwek, A.; Wolak, M.; Stachowicz, K.; Sławińska, A.; Nowak, G.; Satała, G.; Bojarski, A.J.; Belka, M.; Ulenberg, S.; Bączek, T.; Skowronek, P.; Turło, J.; Herold, F.

European Journal of Medicinal Chemistry, 2015, DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.05.003.

3,902 pkt. IF                      40 pkt. MNiSW

D2. Understanding performance of 3D-printed sorbent in study of metabolic stability

Ulenberg, S.; Georgiev, P.; Belka, M.; Ślifirski, G.; **Wróbel, M.Z.**; Chodkowski, A.; Król, M.; Herold, F.; Bączek, T.

Journal of Chromatography A, 2020, DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461501;

4,759 pkt. IF                      100 pkt. MNiSW

D3.    Ligandy receptora 5HT<sub>1A</sub> jako potencjalne leki przeciwdepresyjne

**Wróbel, M.Z.\***; Marciniak, M.

Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 2015,

DOI: 10.56782/ppp.115

0,0 pkt. IF                      5 pkt. MNiSW

### 3.3.4 Podsumowanie oraz wpływ uzyskanych wyników badań na rozwój dyscypliny: nauki farmaceutyczne

W ramach przedstawionego osiągnięcia naukowego przeprowadziłam kompleksowe badania nad nowymi związkami chemicznymi o potencjalnym działaniu terapeutycznym w obszarze chorób ośrodkowego układu nerwowego. Najważniejsze osiągnięcia:

- uzyskane przeze mnie wyniki umożliwiły lepsze zrozumienie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw działania potencjalnych leków przeciwdepresyjnych, w tym interakcji synergistycznych wynikających z jednoczesnego oddziaływania na wiele celów farmakologicznych. Stanowią źródło wiedzy, które może być wykorzystane w farmacji przy projektowaniu nowych klas związków modulujących aktywność ośrodkowego układu nerwowego (szczególnie w obszarze związków heterocyklicznych), ale także w badaniach neurofarmakologicznych jak i w rozwoju praktycznych nowych terapii chorób o złożonym podłożu neurochemicznym jakim są zaburzenia psychiatryczne;
- zaprojektowałam strukturę oraz metodę syntezy nieopisanych związków o podwójnej wiązalności do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT, w klasie leków częściowych agonistów receptora serotoniny i inhibitora wychwytu zwrotnego serotoniny (SPARI) oraz związków wykazujących polifarmakologiczny profil receptorowy w klasie leków ukierunkowanych na wiele celów farmakologicznych (MTDLs). Cel ten zrealizowałam przez zaprojektowanie i syntezę szeregu nowych pochodnych pirydo[1,2-*c*]pirymidyny a następnie pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)pirolidyno-2,5-dionu. Wszystkie molekuly mają aktywność biologiczną a znaczna ich część wykazuje wysoką podwójną wiązalność z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> i transporterem SERT;
- na drodze racjonalnego projektowania leków i optymalizacji struktury wiodącej otrzymałam związki **4f** ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 10,0 nM,  $K_i$  SERT = 2,8 nM) i **6b** ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> =

3,5 nM,  $K_i$  SERT = 1,5 nM), oraz **4n** ( $K_i$  5-HT<sub>1A</sub> = 3,8 nM,  $K_i$  SERT = 1,0 nM), które wykazały powinowactwo w badaniach *in vitro* porównywalne lub lepsze od zarejestrowanych leków przeciwdepresyjnych z grupy SPARI – wilazodonu i MTDL – wortioksetyny. Wyniki te mogą stanowić wartościowy punkt wyjścia do dalszych badań nad nowymi związkami o podobnym mechanizmie działania receptorowego;

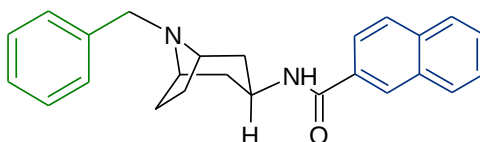
- otrzymałam związek **MW005**, łączący mechanizm wieloreceptorowy, agonizm pre- i postsynaptyczny wobec 5-HT<sub>1A</sub>, dobrą stabilność metaboliczną oraz zależną od dawki aktywność przeciwdepresyjną w teście wymuszonego pływania u myszy (FST);
- przeanalizowałam i opisałam wpływ przeprojektowania fragmentu 3-piperydino-4-ylo-1*H*-indolu oraz 3-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1*H*-indolu (spełniających kryteria farmakoforów 5-HT<sub>1A</sub> i SERT) na powinowactwo do wielu celów molekularnych. Wnioski te stanowią wkład w rozwój chemii medycznej i projektowania leków mając na uwadze duże znaczenie tych fragmentów jako elementów strukturalnych związków o udowodnionej aktywności w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego, takich jak depresja.

### 3.4 Dodatkowe osiągnięcie naukowe w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Oprócz osiągnięć wskazanych w punkcie 3.2 będących podstawą postępowania habilitacyjnego, posiadam dodatkowe osiągnięcia naukowe w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

#### 3.4.1 Badania nad nowymi związkami o potencjalnym działaniu antypsychotycznym w grupie pochodnych 3β-aminotropanu.

Pierwsze osiągnięcie dotyczy opracowania i zsyntetyzowania pochodnych 3β-aminotropanu, potencjalnych atypowych leków antypsychotycznych, określenia ich aktywności biologicznej wobec receptorów D<sub>2</sub>, 5HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> oraz oceny ich aktywności przeciwpsychotycznej i anksjolitycznej w modelach zwierzęcych.



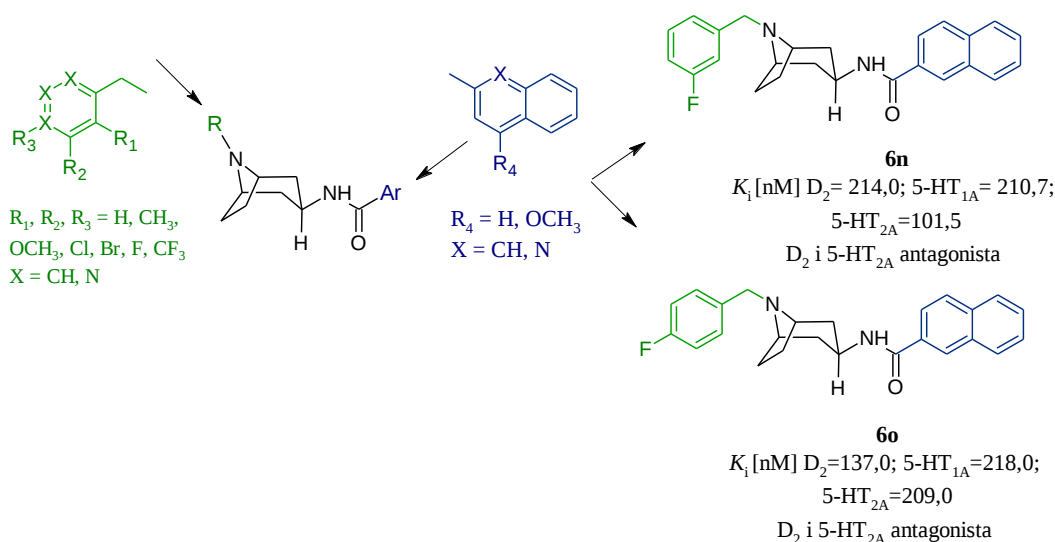
**struktura wiodąca** pochodnych 3β-aminotropanu

$$K_i \text{ [nM]} = D_2=82,4; 5\text{-HT}_{1A}=303,8; 5\text{-HT}_{2A}=2,5$$

**Rysunek 15** Struktura wiodąca pochodnych 3 $\beta$ -aminotropanu potencjalnych atypowych leków antypsychotycznych.

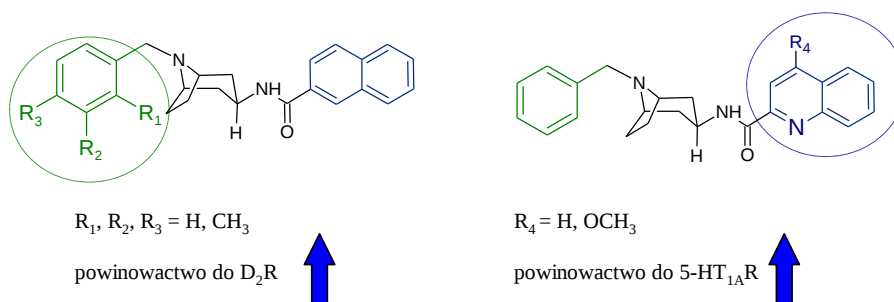
Badania te prowadziłam we współpracy z dr Jackiem Stefanowiczem i mgr Tomaszem Słowińskim z Katedry i Zakładu Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej WUM. Moje badania nad tą grupą związków rozpoczęłam od zbadania razem ze współpracownikami na drodze dwuetapowej analizy SAR ligandów receptorów 5HT<sub>1A</sub>, 5HT<sub>2A</sub> i D<sub>2</sub>, które należały do opisanych wcześniej pochodnych tropanu [102], obejmującej identyfikację farmakoforów oraz dokowanie komputerowe do modelu receptora D<sub>2</sub> – wyniki opisaliśmy w publikacji [P1]. W pierwszym etapie określiliśmy kluczowe właściwości chemiczne pochodnych tropanu, a w drugim oceniliśmy ich interakcje z receptorem D<sub>2</sub>, porównując wyniki z danymi *in vitro* i *in vivo*. Wyniki te wykorzystaliśmy projektując kolejną serię pochodnych tropanu o wysokim powinowactwie do wymienionych celów molekularnych.

Rozwijając temat opisaliśmy syntezę i badania aktywności biologicznej nowych pochodnych 3 $\beta$ -aminotropanu w publikacji [P2], **gdzie pełnię rolę autora korespondującego**. Część badanych związków wykazała wysoką aktywność wobec receptorów D<sub>2</sub>, 5HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> (Rysunek 16). Szczególnie obiecujące okazały się pochodne **6n** i **6o** (symbole zgodne z publikacją [P2]) o korzystnym profilu przeciwpsychotycznym, łączącym antagonizm receptorów dopaminowych D<sub>2</sub> i serotoninowych 5-HT<sub>2A</sub> oraz stabilność metaboliczną.



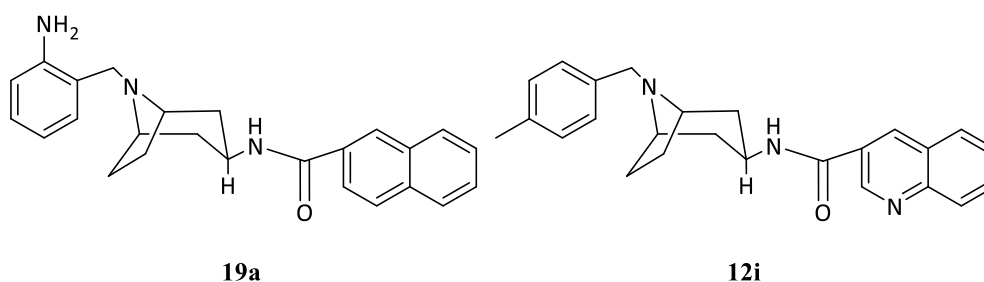
**Rysunek 16** Struktura pochodnych 3 $\beta$ -aminotropanu ligandów receptora 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> i D<sub>2</sub> [P2].

Kontynuując badania nad pochodnymi 3 $\beta$ -aminotropanu, dokonaliśmy modyfikacji struktury wiodącej w celu zwiększenia powinowactwa do receptora 5-HT<sub>1A</sub> oraz poprawy rozpuszczalności zaprojektowanych związków w wodzie. Opisaliśmy syntezę, analizę SAR oraz ocenę aktywności biologicznej strukturalnych analogów pochodnych 3 $\beta$ -acylamino-*tropanu* z wprowadzonym podstawnikiem metylowy w pierścieniu benzylovym oraz ugrupowaniem 2-, 3- lub 6-chinoliny Rysunek 17 – w publikacji [P3] gdzie ponownie pełnię rolę autora korespondującego.



**Rysunek 17** Pochodnych 3 $\beta$ -acylamino-*tropanu* seria z podstawnikiem metylowy w pierścieniu benzylovym oraz ugrupowaniem 2-, 3- lub 6-chinoliny [P3].

Nową serię pochodnych 3 $\beta$ -aminotropanu poddaliśmy ocenie pod kątem ich powinowactwa do receptorów 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> i D<sub>2</sub>, co pozwoliło na identyfikację związków **12e**, **12i** oraz **19a** (symbole zgodne z publikacją [P3]) (Rysunek 18) jako ligandów o najwyższym powinowactwie do badanych receptorów. Wybrane związki, **12i** i **19a**, wykazały właściwości przeciwpsychotyczne w teście hiperaktywności lokomotorycznej indukowanej przez D-amfetaminę oraz MK-801 u myszy. Działanie anksjolityczne zaobserwowaliśmy wyłącznie dla związku **12h**. Ponadto związek **19a** wykazał istotną aktywność przeciwdepresyjną w teście wymuszonego pływania u myszy. Korzystny i bardziej kompleksowy profil aktywności związku **19a** stanowi solidną przesłankę do dalszych racjonalnych poszukiwań nowych leków przeciwpsychotycznych w obrębie tej klasy strukturalnej.



**Rysunek 18** Struktura związków **19a** i **12i** (symbol zgodny z [P3]).

Uzyskane wyniki zostały opisane w trzech publikacjach, w dwóch z nich pełnię **rolę autora korespondującego**:

P1. Model structure-activity relationship studies of potential tropane 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, and D<sub>2</sub> receptor ligands

Słowiński, T.; Stefanowicz, J.; **Wróbel M.Z.**; Herold F.; Mazurek, A.; Pluciński, F.; Mazurek, A.P.; Wolska, I.

Medicinal Chemistry Research, 2013, DOI: 10.1007/s00044-012-0305-6;

0 pkt. IF

20 pkt. MNiSW

P2. Synthesis and biological investigation of new equatorial ( $\beta$ ) stereoisomers of 3-aminotropane arylamides with atypical antipsychotic profile

Stefanowicz, J.; Słowiński, T.; **Wróbel, M.Z.\***; Herold, F.; Gomółka, A.E.; Wesołowska, A.; Jastrzębska-Więsek, M.; Partyka, A.; Andres-Mach, M.; Czuczwar, S.J.; Łuszczki, J.J.; Zagaja, M.; Siwek, A.; Nowak, G.; Żołnierek, M.; Bączek, T.; Ulenberg, S.; Belka, M.; Turło, J.

Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2016, DOI: 10.1016/j.bmc.2016.06.038;

2,930 pkt. IF

25 pkt. MNiSW

P3. Synthesis and biological investigations of 3 $\beta$ -aminotropane arylamide derivatives with atypical antipsychotic profile

Stefanowicz, J.; Słowiński, T.; **Wróbel, M.Z.\***; Ślifirski, G.; Dawidowski, M.; Stefanowicz, Z.; Jastrzębska-Więsek, M.; Partyka, A.; Wesołowska, A.; Turło, J.

Medicinal Chemistry Research, 2018, DOI: 10.1007/s00044-018-2203-z;

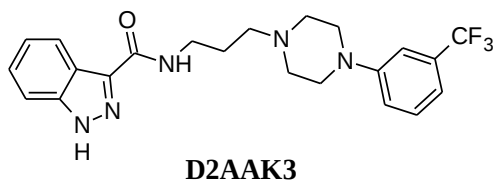
1,720 pkt. IF

20 pkt. MNiSW

\* - autor korespondujący

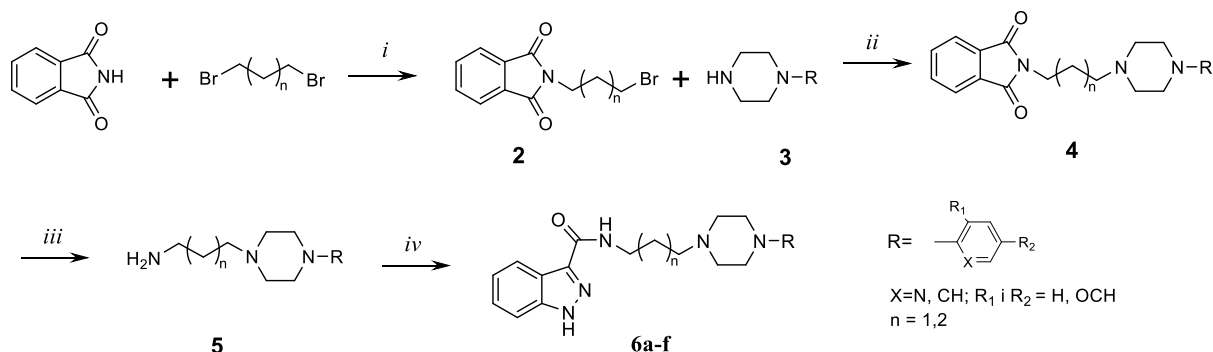
### 3.4.2 Synteza i ocena biologicznej aktywności przeciwpachotycznej pochodnych *N*-[ $\omega$ -(4-podstawionopiperazyn-1-ylo)alkilo]-1*H*-indazol-3-karboksamidu.

Kontynuując temat naukowy dotyczący projektowania nowych związków o potencjalnym działaniu w leczeniu chorób OUN, moim drugim dodatkowym osiągnięciem naukowym w dyscyplinie nauki farmaceutycznej było opracowanie i optymalizacja metody syntezy nowych związków LCAPs, pochodnych 1*H*-indazolo-3-karboksamidów, o powinowactwie do receptora 5HT<sub>1A</sub> oraz D<sub>2</sub>, potencjalnych atypowych neuroleptyków III generacji. Tematyka ta była przeze mnie rozwijana we współpracy z dr hab. Agnieszką Kaczor z Katedry i Zakładu Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Strukturę badanych związków zaprojektowano w oparciu o wyniki badań dr hab. Kaczor, dotyczące poszukiwania ligandów receptora D<sub>2</sub> techniką *structure-based virtual screening* [103]. Rezultatem badań pod przewodnictwem dr hab. A. Kaczor było wyselekcjonowanie 21 ligandów receptora D<sub>2</sub> z których związek **D2AAK3** okazał się być najlepszy i został oznaczony jako „hit to lead” (Rysunek 19).



**Rysunek 19** Wielocelowy ligand receptorów aminergicznych GPCR, pochodna *N*-[ $\omega$ -(4-podstawionych-piperazyn-1-ylo)alkilo]-1*H*-indazolo-3-karboksamidu (**D2AAK3**) [103].

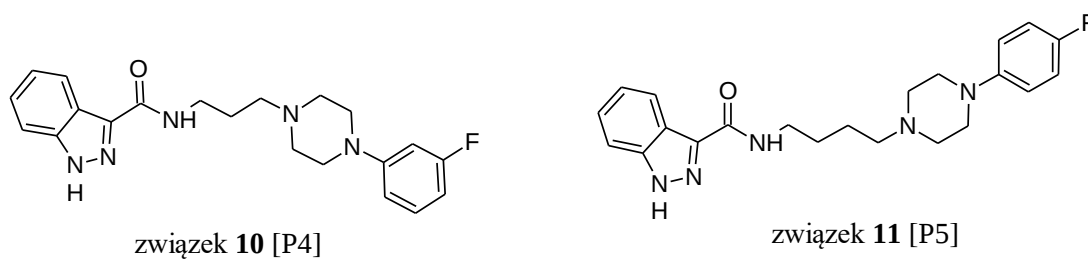
Moim zadaniem było zaprojektowanie serii analogów **D2AAK3** w grupie LCAPs, opracowanie i optymalizacja metody ich syntezy oraz oczyszczania. Schemat syntezy został przedstawiony na Rysunek 20. Opracowana przeze mnie metoda została z sukcesem zaimplementowana do otrzymania innych pochodnych, które były lub są badane przez Zespół dr hab. Kaczor.



**Rysunek 20** Synteza pochodnych *N*-[ $\omega$ -(4-podstawionych-piperazyn-1-ylo)alkilo]-1*H*-indazolo-3-karboksamidu **6a-f**. Odczynniki i warunki: (i) 1,4-dibromobutan, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, butan-2-one, reflux, 10 h; (ii) *N*-podstawione piperazyny, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KI<sub>(cat.)</sub>, ACN, reflux, 5–22 h; (iii) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O, EtOH 96%, reflux, 3 h; (iv) kwas 1*H*-indazolo-3-karboksylowy, CDI, DMF, 60 °C, 2 h → 4.5 h.

Wyniki wstępnych badań *in vitro* dla otrzymanych przez mnie analogów **6a-f** i metoda syntezy opracowana przez mnie posłużyła do otrzymania całej serii pochodnych, które wykazują polifarmakologiczny profil receptorowy, są ligandami aminergicznych receptorów sprzężonych z białkami G (GPCR), w szczególności receptora dopaminowego D<sub>2</sub> oraz receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> -opisane w publikacjach [P4] oraz [P5].

Na podstawie przeprowadzonych przeprojektowań zidentyfikowano dwa najbardziej obiecujące związki. *N*-(3-[4-(4-fluorofenylo)piperazyn-1-ylo]propylo)-1*H*-indazol-3-karboksamid (**10**) [P4] oraz *N*-(4-[4-(4-fluorofenylo)piperazyn-1-ylo]butylo)-1*H*-indazol-3-karboksamid (**11**) [P5]. Oba związki wykazywały obiecujące profile farmakologiczne, łącząc antagonizm wobec D<sub>2</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> oraz agonizm wobec 5-HT<sub>1A</sub>, co może być korzystne w terapii schizofrenii. Związek **10** D<sub>2</sub>: K<sub>i</sub> = 284 nM, 5-HT<sub>1A</sub>: K<sub>i</sub> = 114 nM, 5-HT<sub>2A</sub>: K<sub>i</sub> = 94,4 nM; Związek **11** D<sub>2</sub>: K<sub>i</sub> = 45,7 nM, 5-HT<sub>1A</sub>: K<sub>i</sub> = 160 nM, 5-HT<sub>2A</sub>: K<sub>i</sub> = 96,4 nM.



**Rysunek 21** Struktura pochodnych 1*H*-indazol-3-karboksamidów związków **10** i **11** o silnym działaniu przeciwpsychotycznym.

Związek **10** wykazywał dobrą przepuszczalność (BBB), co sugeruje wysoką biodostępność w OUN. Zarówno związek **10**, jak i związek **11** (Rysunek 21) wykazywały silne działanie przeciwpsychotyczne, redukując nadpobudliwość ruchową indukowaną amfetaminą w teście aktywności lokomotorycznej i nadpobudliwość indukowaną amfetaminą, przy czym nie wpływały negatywnie na pamięć i koordynację ruchową w teście pamięci pasywnej (PA Test) i Test koordynacji ruchowej (Rota-Rod Test). Związek **11** w wysokich dawkach wykazywał efekt sedacyjny, co może mieć znaczenie w dalszych badaniach nad jego zastosowaniem terapeutycznym.

Na podstawie powyższych badań został nam **przyznany patent polski** oraz powstały dwa artykuły, w których jestem współautorem:

[PATENT] “*N-[ $\omega$ -(4-substituted-piperazin-1-yl)alkyl]-1H-indazole-3-carboxamide derivatives, method of their preparation and their application*”, Pat.244248, WUP 27-12-2023

Kaczor Agnieszka Anna [PL]; Stępnicki Piotr [PL]; Wróbel Tomasz [PL]; Matosiuk Dariusz [PL]; Castro Pérez María De Los Ángeles [ES]; Loza García María Isabel [ES]; **Wróbel Martyna Z** [PL]; Chodkowski Andrzej [PL]; Turło Jadwiga [PL];

P4. Novel multi-target ligands of dopamine and serotonin receptors for the treatment of schizophrenia based on indazole and piperazine scaffolds—synthesis, biological activity, and structural evaluation

Stępnicki, P.; Wronikowska-Denysiuk, O.; Zięba, A.; Targowska-Duda, K.M.; Bartyzel, A.; **Wróbel, M.Z.**; Wróbel, T.M.; Szałaj, K.; Chodkowski, A.; Mirecka, K.; Budzyńska, B.; Fornal, E.; Turło, J.; Castro, M.; Kaczor, A.A.

Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2023, DOI: 10.1080/14756366.2023.2209828,

5,6 pkt. IF

140 pkt. MNiSW

P5. Discovery of novel arylpiperazine-based DA/5-HT modulators as potential antipsychotic agents - Design, synthesis, structural studies and pharmacological profiling

Stępnicki, P.; Targowska-Duda, K.M.; Martínez, A.L.; Zięba, A.; Wronikowska-Denysiuk, O.; **Wróbel, M.Z.**; Bartyzel, A.; Trzpił, A.; Wróbel, T.M.; Chodkowski, A.; Mirecka, K.; Karcz, T.; Szczepańska, K.; Loza, M.I.; Budzyńska, B.; Turło, J.; Handzlik, J.; Fornal, E.; Poleszak, E.; Castro, M.; Kaczor, A.A.

European Journal of Medicinal Chemistry, 2023, DOI: 10.1016/j.ejmech.2023.115285,

6,0 pkt. IF

200 pkt. MNiSW

#### 4. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.

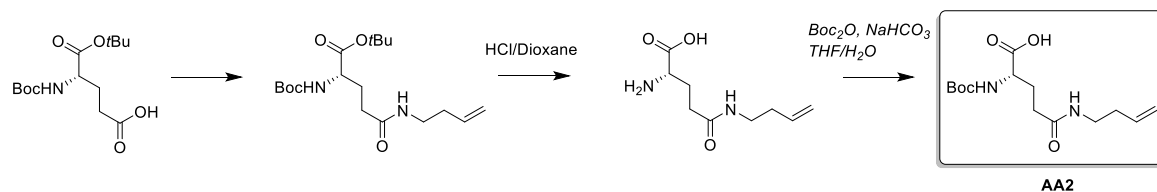
##### 4.1 Aktywność naukowa realizowana we współpracy z innymi uczelniami i instytucjami naukowymi w szczególności zagranicznymi.

#### **Synteza aminokwasów nienaturalnych, peptydomimetyków i peptydów.**

Współpraca z prof. Maciejem Dawidowskim z Katedry i Zakładu Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej WUM, była początkiem mojego zainteresowania nowym kierunkiem badawczym jakim było zastosowanie jako leków związków z grupy peptydomimetyków i peptydów. Aby rozpocząć prace w tym nowym dla mnie obszarze naukowym w terminie 4.03 – 31.03.2019 odbyłam **staż naukowy w Pracowni Peptydów Zakładu Chemii Organicznej na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu Warszawskiego** kierowanej przez prof. Aleksandrę Misicką-Kęsik. Opiekunem stażu była dr hab. Karolina Pułka-Ziach. W trakcie stażu poznałam nowe techniki laboratoryjne syntezy peptydów na nośniku stałym (ang. solid-phase peptide synthesis; SPPS) a także SPPS w reaktorze mikrofalowym. Nabyłam umiejętności projektowania peptydów aktywnych biologicznie, sposobu ich syntezy oraz izolacji i oczyszczania metodami chromatograficznymi z wykorzystaniem HPLC. **Nabyte kompetencje naukowe wykorzystałam projektując peptyd cykliczny, który był przedmiotem badań projektu MINIATURA 2 2018/02/X/NZ7/02747 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pod tytułem „Synteza peptydów cyklicznych jako sond molekularnych hamujących tworzenie kompleksu PEX5-PTS1”, którego byłam kierownikiem.** Celem projektu było otrzymanie cyklicznego peptydu **MZW002** Schemat 6, ligandu białka peroksysomalnego PEX5, który kompetencyjnie wiązałby się w miejsce odcinka sygnałowego PTS1, jako sondy molekularnej do badania biogenezy i funkcji peroksysomów. Związki o takiej aktywności biologicznej mogą pomóc lepiej poznać szlak PEX i mechanizm transportu białek do peroksysomów. Mogą one również stać się potencjalnymi lekami przeciw chorobom wywołanym przez świdrowce (choroba Chagasa, śpiączka afrykańska).

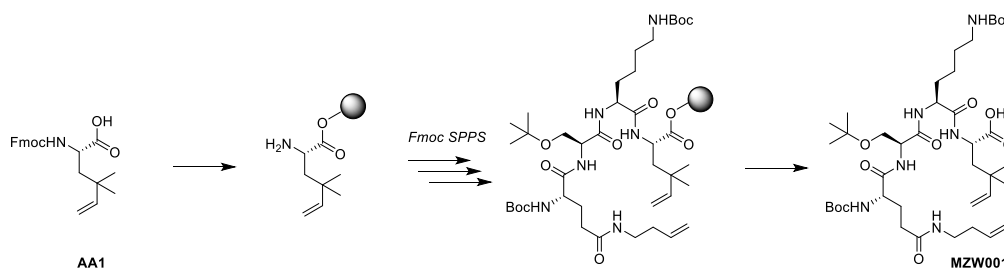
Projekt zakładał syntezę peptydu cyklicznego **MZW002**. Zadanie realizowałam w kilku etapach. Kwas (2S)-2-[(Fmoc)amino]-4,4-dimetyloheks-5-enoinowego (**AA1**) otrzymałam zgodnie z metodą opisaną w literaturze [104]. Synteza **MZW002** wymagała otrzymania

nowego związku *N*-5-(but-3-en-1-ylo)-*N*-2-Boc-*L*-glutaminy (**AA2**), który otrzymałam według zaprojektowanej przeze mnie procedury opisanej na Schemat 4.



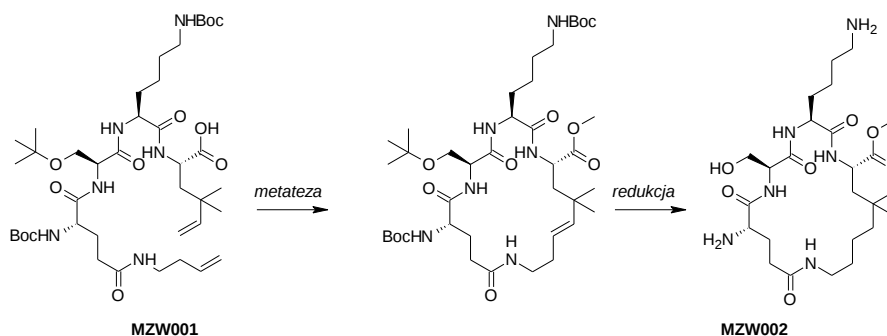
**Schemat 4** Synteza *N*-5-(but-3-en-1-ylo)-*N*-2-Boc-*L*-glutaminy (**AA2**).

Peptydu **MZW001** otrzymałam na drodze syntezy SPPS [105][106][107] (Schemat 5). Reakcję prowadziłam zarówno na żywicy 2-chlorotrytylowej jak i na żywicy Wang.



**Schemat 5** Synteza peptydu **MZW001** na nośniku stałym, metodą SPPS.

Ostatnim etapem była reakcja metatezy z zamknięciem pierścienia (ang. ring-closing metathesis; RCM) oraz redukcja wiązania podwójnego z jednoczesnym odbezpieczeniem grup funkcyjnych Schemat 6. Przygotowując się do tego zadania **konsultowałam się z pracownikami Laboratorium Syntezy Metaloorganicznej Uniwersytetu Warszawskiego z grupy prof. Karola Greli oraz odbyłam u nich szkolenie i nabyłam uprawnienia do samodzielnej obsługi aparatu firmy Agilent 400-MR DD2 400 służącego do określania struktury metodą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego NMR.**



**Schemat 6** Synteza peptydu cyklicznego **MZW002** w reakcji metatezy z zamknięciem pierścienia.

Realizacja działania naukowego w ramach projektu **MINIATURA 2** **pozwoliła mi na rozpoczęcie współpracy z zespołem prof. Grzegorza Dubina z Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego** dotyczącej opracowania nowych sąd molekularnych w szlaku do glikosomalnego PEX. Współpracę tę kontynuowałam w ramach

projektu OPUS NCN UMO-2018/31/B/NZ7/02089 „Nowe, racjonalnie zaprojektowane modulatory importu enzymów do glikosomu w pasożytach *Trypanosoma*” pod kierownictwem prof. Macieja Dawidowskiego jako wykonawca. Do moich obowiązków należało projektowanie i synteza związków chemicznych, określenie ich właściwości fizykochemicznych oraz ocena ich czystości.

Dalsza współpraca z prof. Maciejem Dawidowskim skierowała moją uwagę na duże znaczenie reakcji multikomponentowych (ang. multicomponent reactions, MCRs) dla otrzymania związków o aktywności biologicznej. Efektem naszych badań było opublikowanie metody syntezy pochodnych 2-oksopiperazyn za pomocą pięciocentrowej, czteroskładnikowej reakcji Ugiego, po której następuje sekwencja odblokowania i cyklizacji Rysunek 22 – publikacja [D4].

D4. Ugi 5-center-4-component reaction of  $\alpha$ -amino aldehydes and its application in synthesis of 2-oxopiperazines

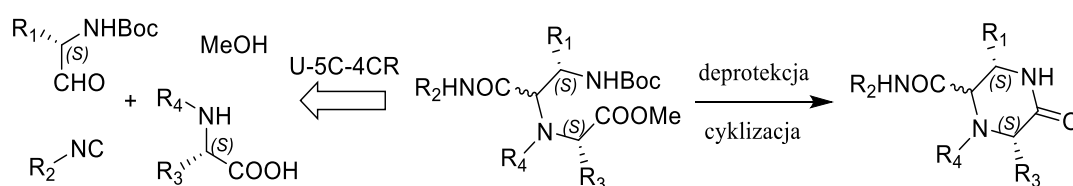
Splandesci, M.; **Wróbel, M.Z.**; Madura, I.D.; Dawidowski, M.

Mol Divers. 2024, DOI: 10.1007/s11030-023-10760-1.

3,9 pkt. IF

70 pkt. MNiSW

Po raz pierwszy jako karbonylowe komponenty w kluczowej reakcji Ugiego (U-5C-4CR) zastosowano *N*-Boc- $\alpha$ -aminoaldehydy. Metodę syntezy wykorzystaliśmy do otrzymania peptydomimetyków pochodnych oksopiperazyny jako potencjalnych inhibitorów interakcji białek PEX14 i PEX5 w ramach projektu OPUS12 2016/23/B/NZ7/03339 „Peptydomimetyki pochodne oksopiperazyny jako potencjalne inhibitory interakcji białek PEX14 i PEX5” finansowanego przez NCN.

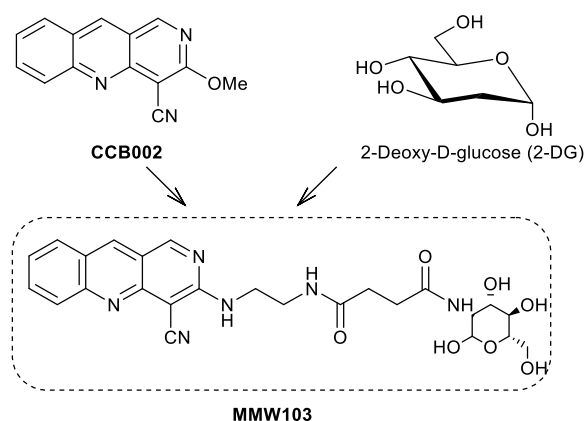


**Rysunek 22** Zaplanowana sekwencja Ugi/deprotekcja/cyklizacja oparta na wariacie U-5C-4CR.

Realizując zadania w ramach wymienionych projektów OPUS dotyczących syntezy inhibitorów interakcji białek PEX14 i PEX5 miałam okazję pracować w międzynarodowym zespole naukowym z naukowcami z Instytutu Biologii Strukturalnej, Helmholtz Zentrum München i Centrum Zintegrowanej Nauki o Białkach, Wydziału Chemii, Politechniki Monachijskiej z Niemiec kierowanymi przez prof. Martina Settlera oraz prof. Grzegorza Popowicza. W ramach mojej współpracy z wyżej wymienionymi grupami naukowymi

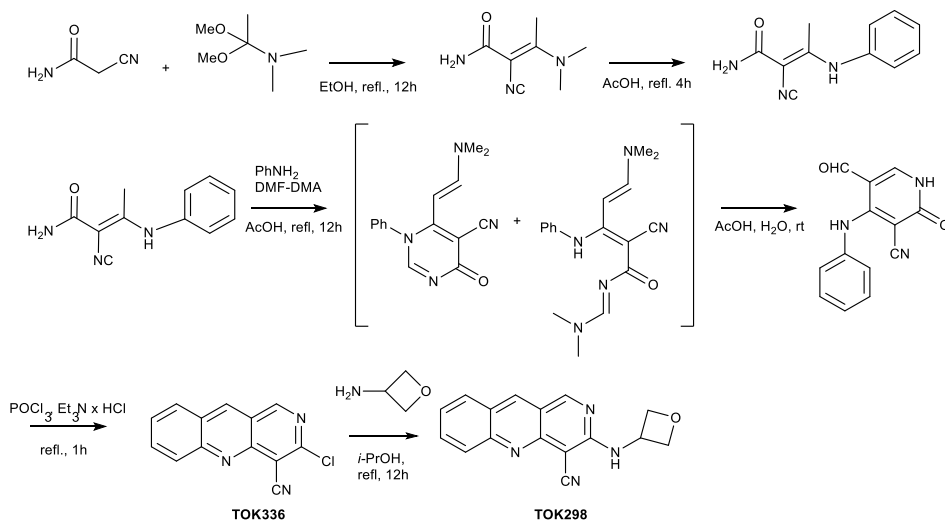
zapropnowałam koncepcję rozwijania badań nad związkiem **CCB002** Rysunek 23. Efektem był projekt „Synteza nowych inhibitorów interakcji CPAP-tubuliny o działaniu przeciwnowotworowym” (projekt wewnętrzny Nr. FW26/1/F/GW/N/20), którego byłam kierownikiem.

Celem projektu było otrzymanie związków hybrydowych, analogów związku **CCB002**, które łączyłyby dwie strategie poszukiwania nowych terapii przeciwnowotworowych [108]. Związki te zostały zaprojektowane jako inhibitory interakcji CPAP-tubuliny oraz jako cytotoksyczne inhibitory glikolizy. Realizując projekt opracowałam metodę syntezy zaplanowanego w projekcie koniugatu pochodnej **CCB002** i glukozy, czyli związku **MMW103** (Rysunek 23).

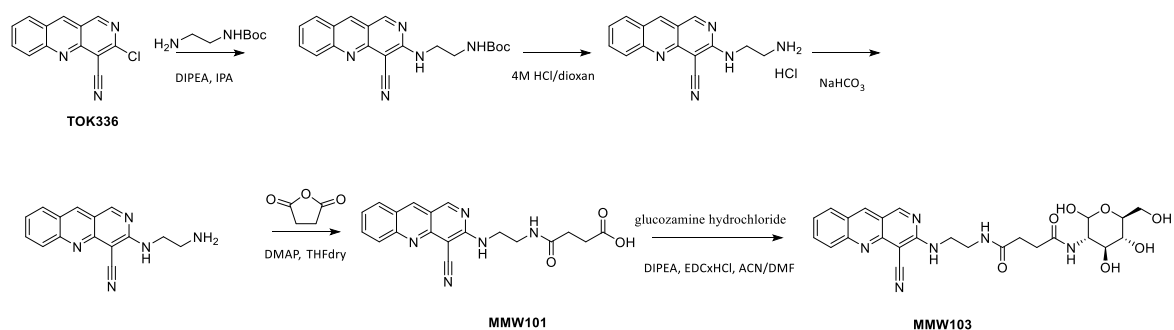


**Rysunek 23** Projektowanie struktury wiodącej związku **MMW103**.

W ramach projektu moim zadaniem była synteza pochodnej 3-chlorobenzo[*b*][1,6]naftyrydino-4-karbonitrylu (**TOK336**) Schemat 7, który posłużył jako substrat w zaprojektowanej przeze mnie metodzie otrzymywania związku **MMW103** Schemat 8.

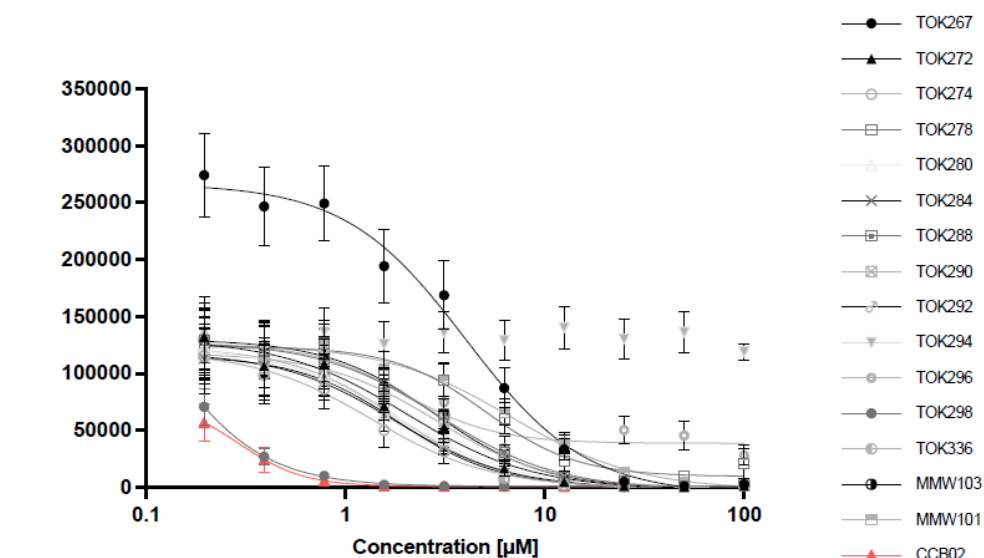


**Schemat 7** Synteza pochodnych benzo[*b*][1,6]naftyrydino-4-karbonitrylu **TOK336** i **TOK298** [109].



### Schemat 8 Synteza związku końcowego MMW103.

Związek **MMW103** został przebadany w teście Alphascreen przez Instytut Biologii Strukturalnej, Helmholtz Zentrum München razem ze związkiem referencyjnym **CCB002**, **MMW101** oraz innymi analogami związku **TOK336**, wyniki zebrano na Rysunek 24.



|      | TOK267 | TOK272 | TOK274 | TOK278 | TOK280 | TOK284 | TOK288 | TOK290 | TOK292 | TOK294 | TOK296 | TOK298 | TOK336 | MMW103 | MMW101 | CCB02  |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| IC50 | 4.010  | 2.043  | 1.360  | 5.029  | 1.788  | 1.829  | 2.934  | 2.843  | 1.754  |        | 1.947  | 0.1233 | 1.839  | 2.812  | 6.780  | 0.2935 |

**Rysunek 24** Zdolność otrzymanych pochodnych do inhibicji interakcji CPAP-tubulina z wykorzystaniem technologii Alphascreen.

Aktywność związku **MMW103** w teście była dużo niższa od związku referencyjnego natomiast nadal jest on aktywny. Warto zwrócić uwagę, że dużym ograniczeniem związku **CCB002** są jego słabe parametry farmakokinetyczne, dlatego otrzymany **MMW103** pomimo niższej aktywności ma szansę te właściwości poprawić. **MMW103** wpisuje się z teorię „smart delivery” poszukiwania nowych leków przeciwnowotworowych: zwiększa przepuszczalność przez barierę krew-mózg oraz nasila kumulację związku na terenie komórek rakowych, których cechą jest zwiększone zapotrzebowanie na glukozę. Uwagę zwraca związek **TOK298** (Schemat 7), który był bardziej aktywny w teście niż **CCB002**. W celu weryfikacji skuteczności biologicznej nowo otrzymanych związków w kontekście ich potencjalnego zastosowania w

terapii nowotworowej planowane są badania (we współpracy z Uniwersytetem Heinricha Heinego w Düsseldorfie) przeciwnowotworowe *in vivo*, wpływu otrzymanych związków o wysokiej aktywności *in vitro*, na ich aktywność przeciwnowotworową na różne linie komórkowe H1975 (rak płuc) czy MDA-MB-231 (rak piersi), co pozwoli ocenić specyficzność działania związku względem danego typu nowotworu.

Równolegle, brałam udział w pracach nad **syntezą i oceną aktywności przeciwdrgawkowej pochodnych 2-arylo-2-(pirydyn-2-ylo)acetamidów** gdzie zostałam włączona w prace międzynarodowego zespołu składającego się grup z Instytutu Biologii Strukturalnej, Helmholtz Zentrum München i Centrum Zintegrowanej Nauki o Białkach, Wydziału Chemii, Politechniki Monachijskiej z Niemiec kierowanej przez prof. Grzegorza Popowicza oraz Katedry Fizjologii, Centrum Biomedycznego, Wydział Medycyny w Pilźnie, Uniwersytet Karola z Czech kierowanej przez prof. Milana Štengl oraz grupy ze Szkoły Fizjologii, Farmakologii i Nauk Neurologicznych, Wydziału Nauk Medycznych, Uniwersytet w Bristolu w Wielkiej Brytanii kierowanej przez prof. Jules C. Hancox. Otrzymane związki wykazywały szeroką aktywność w „klasycznych” testach maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES) oraz podskórnego podania metrazolu (scMET), jak również w modelach napadów lekoopornych – 6 Hz oraz kindlingu. Ponadto, związki charakteryzowały się korzystnym wskaźnikiem terapeutycznym, tj. relacją między działaniem przeciwdrgawkowym a upośledzeniem funkcji motorycznych. Wyniki zostały opublikowane w publikacji [D5].

D5. Structure-activity relationship and cardiac safety of 2-aryl-2-(pyridin-2-yl)acetamides as a new class of broad-spectrum anticonvulsants derived from Disopyramide

Dawidowski, M.; Król, M.; Szulczyk, B.; Chodkowski, A.; Podsadni, P.; Konopelski, P.; Ufnal, M.; Szuberski, P.; **Wróbel, M.Z.**; Zhang, Y.; El Harchi, A.; Hancox, J.C.; Jarkovska, D.; Mistrova, E.; Sviglerova, J.; Štengl, M.; Popowicz, G.M.; Turło, J.

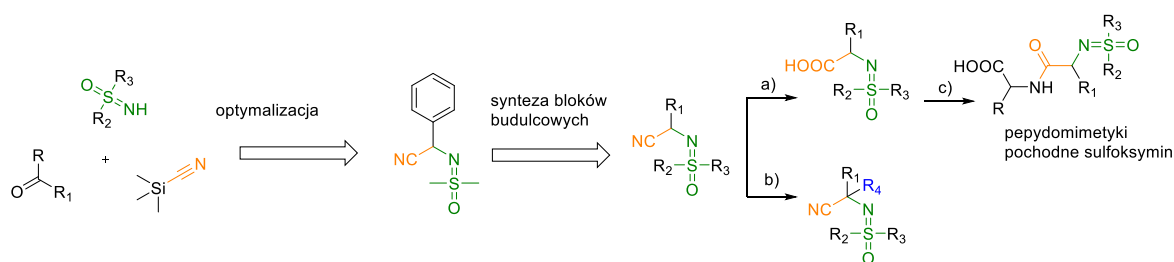
Bioorg. Chem., 2020, DOI:10.1016/j.bioorg.2020.103717.

5,275 pkt. IF

100 pkt. MNiSW

Doświadczenie zdobyte przy poprzednich projektach badawczych wyznaczyło kierunek moich aktualnych badań. Obecnie moje badania koncentrują się na zastosowaniu reakcji multikomponentowych (MCRs) do otrzymania peptydomimetyków i aminokwasów nienaturalnych jako bloków budulcowych w syntezie peptydów o spodziewanej aktywności biologicznej. **Swoje prace prowadzę jako członek międzynarodowego zespołu badawczego w ramach projektu OPUS 24 2022/47/B/NZ7/01411 „Eksploracja niezbadanej przestrzeni**

chemicznej związków lekopodobnych: nowe klasy pochodnych sulfoksymin i ich aktywność biologiczna” pod kierownictwem prof. Macieja Dawidowskiego, gdzie pełnię rolę wykonawcy. Wykorzystując swoje doświadczenie i nawiązaną współpracę naukową w czasie stażu naukowego w Pracowni Peptydów UW z dr Anną Puszko pracuję nad otrzymaniem nowych pochodnych sulfoksymin,  $\alpha$ -aminokwasów nienaturalnych, za pomocą reakcji multikomponentowej Streckera. Rozwijając moje badania chcę udowodnić możliwość modyfikacji pokondensacyjnych otrzymanych związków (Rysunek 25) oraz możliwość ich wykorzystania jako substraty w syntezie SPSS analogów peptydów o aktywności biologicznej, które mogą być stosowane jako leki, Rysunek 25.



**Rysunek 25** Synteza pochodnych sulfoksymin za pomocą reakcji Streckera. a) hydroliza; b) substytucja; c) kondensacja.

## 4.2 Staże naukowe

- Pracownia Peptydów, Zakład Chemii Organicznej Wydziału Chemicznego Uniwersytetu Warszawskiego, STAŻYSTA

4 marca 2019 – 31 marca 2019

W trakcie stażu nabyłam wiedzę i umiejętności praktyczne z zakresu syntezy peptydów na nośniku stałym w warunkach standardowych oraz w reaktorze mikrofalowym oraz metod oczyszczania produktów syntezy z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). W trakcie stażu nawiązałam współpracę naukową z dr Anną Puszko UW, dotyczącą syntezy peptydów i peptydomimetyków, która aktualnie stanowi jeden z głównych obszarów moich badań.

- Gedeon Richter Grodzisk Mazowiecki, Wytwórnia Leków Gotowych, PRAKTYKANT

4 listopada – 29 listopada 2019

W ramach praktyk odbyłam szkolenie z podstaw technologii wytwarzania stałych postaci leków w skali przemysłowej (naważanie i obróbka surowców, granulacja, tabletkowanie, powlekanie, pakowanie), kontrola etapów wytwarzania (IPC), ogólne zapoznanie z pracą w jednostkach innych – Oddział Półtechniki, Dział Kontroli Jakości, Dział Rozwoju

Produktów. W trakcie praktyk uzupełniłam swoje kompetencje jako osoba odpowiedzialna za organizację i koordynowanie zajęć dla Bloku Fakultatywnego Bloku Farmacja Przemysłowa i Biotechnologia Farmaceutyczna (FPiBF), którą pełnię od 2018r oraz jako kierownik przedmiotów „Przemysłowa Technologia Leku Syntetycznego”, „Cykl życia leku. Od pomysłu do wdrożenia” oraz „Rola farmaceuty i jego miejsce w przemyśle farmaceutycznym” dla kierunku Farmacja na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Aktualnie wspólnie z pracownikami Gedeon Richter realizuję zadania związane z organizacją zajęć dydaktycznych w obszarze farmacji przemysłowej, które mają na celu praktyczne zapoznanie studentów Wydziału Farmaceutycznego z wytwarzaniem form suchych leków w skali przemysłowej.

#### 4.3 Projekty badawcze

Poza projektami wymienionymi w rozdziale 3.3, byłam/jestem wykonawcą lub kierownikiem następujących projektów:

Zakończone:

- „Synteza peptydów cyklicznych jako sond molekularnych hamujących tworzenie kompleksu PEX5-PTS1”  
Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki  
Nazwa konkursu: MINIATURA  
Numer rejestracyjny: 2018/02/X/NZ7/02747  
Kierownik: dr Martyna Wróbel
- „Synteza nowych inhibitorów interakcji CPAP-tubuliny o działaniu przeciwnowotworowym”  
Źródło finansowania: Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Nazwa konkursu: Grant Wewnętrzny  
Numer rejestracyjny: FW26/1/F/GW/N/20  
Kierownik: dr Martyna Wróbel
- „Nowe, racjonalnie zaprojektowane modulatory importu enzymów do glikosomu w pasożytach Trypanosoma”  
Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki  
Nazwa konkursu: OPUS  
Numer rejestracyjny: UMO-2018/31/B/NZ7/02089  
Kierownik: prof. Maciej Dawidowski  
Wykonawca: dr Martyna Wróbel

Realizowane:

- „Eksploracja niezbadanej przestrzeni chemicznej związków lekopodobnych: nowe klasy pochodnych sulfoksyminy i ich aktywność biologiczna”  
Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki  
Nazwa konkursu: OPUS  
Numer rejestracyjny: UMO-2022/47/B/NZ7/01411  
Kierownik: prof. Maciej Dawidowski  
Wykonawca: dr Martyna Wróbel
- „Wykorzystanie bioaktywnego metabolitu postbiotycznego procyjanidyny - PVL208 w terapii stanów zapalnych skóry o różnej etiologii”  
Źródło finansowania: Agencja Badań Medycznych  
Nazwa konkursu: 2024/ABM/03/KPO  
Numer rejestracyjny: 2024/ABM/03/KPO/KPOD.07.07-IW.07-0135/24-00  
Kierownik: prof. Jakub Piwowarski  
Wykonawca: dr Martyna Wróbel

#### 4.4 Współpraca naukowa z innymi jednostkami potwierdzona publikacjami i patentami

Dyscyplina naukowa w którą wpisują się prowadzone przeze mnie badania: chemia medyczna ma charakter interdyscyplinarny, który wymaga zaangażowania wielu ośrodków naukowych z obszaru: obliczeń *in silico*, badań biologicznych *in vitro* i *in vivo*, badań ADMET, krystalografii oraz farmakokinetyki. Dlatego posiadam wieloośrodkową współpracę naukową krajową i zagraniczną.

#### Pochodne pirolidyno-2,5-dionu oraz pochodne 3 $\beta$ -aminotropanu

Pracując nad nowymi związkami w grupie pochodnych pirolidyno-2,5-dionu oraz pochodnych 3 $\beta$ -aminotropanu ocena ich profilu polifarmakologicznego w badaniach radioreceptorowych *in vitro* była możliwa dzięki:

- współpracy z dr Agatą Siwek i prof. Gabrielem Nowakiem z Katedry Farmakobiologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (8 publikacji),
- prof. Andrzejem Bojarskim i dr Grzegorzem Satałą z Zakładu Chemii Leków, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk (IF PAN) (5 publikacji).

Badania behawioralne *in vivo* oceniające aktywność przeciwdepresyjną oraz receptorowy profil funkcjonalny były efektem współpracy z:

- dr hab. Katarzyną Stachowicz i dr hab. Bernadettą Szewczyk z grupy prof. Gabriela Nowaka z Zakładu Neurobiologii Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk (IF PAN) (4 publikacje),

- zespołem prof. Stanisława Jerzego Czuczvara Zakład Patofizjologii Uniwersytet Medyczny w Lublinie (1 publikacja),
- zespołem prof. Anny Wesołowskiej z Zakładu Farmacji Klinicznej, Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (2 publikacje),
- zespołem prof. Martą Andres-Mach z Zakładu Farmakologii Doświadczalnej, Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie (1 publikacja).

Badania *in vivo* choroby Parkinsona w modelu szczurzym były możliwe dzięki mojej współpracy naukowej z

- prof. Christopherem Bishop i dr Michaeliem Coyle z Wydziału Psychologii, Uniwersytetu Binghamton z Nowego Jorku USA (1 poster konferencyjny).

Ocena stabilność metaboliczną w badaniach eksperymentalnych i *in silico* otrzymanych pochodnych:

- współpraca naukowa z prof. Tomaszem Bączkiem, dr hab. Mariuszem Belką oraz dr Szymonem Ulenbergiem z Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej Gdański Uniwersytet Medyczny pozwoliła (5 publikacji).

Badania *in silico* modelowanie molekularne i dokowanie badanych związków:

- współpracy naukowej z prof. Aleksandrem Mazurkiem z Zakładu Chemii Leków wykonano (3 publikacje).

#### **Pochodne 1*H*-indazolo-3-karboksyamidów.**

Współpraca naukowa z:

- Zespołem kierowanym przez dr hab. Agnieszkę Kaczor z Katedry i Zakładu Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (2 publikacje, 1 patent),
- z grupą prof. Marián Castro i prof. Maria I. Loza z Katedry Farmakologii, Centrum Badań nad Medycyną Molekularną i Chorobami Przewlekłymi (CiMUS), Uniwersytetu w Santiago de Compostela oraz Instytutu Badań Zdrowotnych w Santiago de Compostela (IDIS) z Hiszpanii (2 publikacje, 1 patent).

## **Przeciwdrgawkowe pochodne 2-arylo-2-(pirydyn-2-ylo)acetamidów.**

Współpraca naukowa z:

- Instytutem Biologii Strukturalnej, Helmholtz Zentrum München i Centrum Zintegrowanej Nauki o Białkach, Wydziału Chemii, Politechniki Monachijskiej z Niemiec kierowanej przez prof. Grzegorza Popowicza (1 publikacja),
- Katedrą Fizjologii, Centrum Biomedycznego, Wydział Medycyny w Pilźnie, Uniwersytet Karola z Czech kierowanej przez prof. Milana Štengl (1 publikacja),
- Szkołą Fizjologii, Farmakologii i Nauk Neurologicznych, Wydziału Nauk Medycznych, Uniwersytet w Bristolu w Wielkiej Brytanii kierowanej przez prof. Jules C. Hancox (1 publikacja),
- Katedrą i Zakładem Fizjologii i Patofizjologii Eksperymentalnej, Centrum Badań Przedklinicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, kierowanym przez prof. Marcina Ufnala (1 publikacja).

## **Wykorzystanie MCRs do syntezy aminokwasów nienaturalnych, peptydomimetyków i peptydów.**

- Instytutem Biologii Strukturalnej, Helmholtz Zentrum München i Centrum Zintegrowanej Nauki o Białkach, Wydziału Chemii, Politechniki Monachijskiej z Niemiec (2 postery konferencyjne),
- Laboratorium Krystalografii Białek, Małopolskie Centrum Biotechnologii, UJ z Krakowa (1 poster konferencyjny),
- Laboratorium Peptydów, Wydział Chemiczny, Uniwersytet Medyczny (3 postery konferencyjne),
- Katedra Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska (1 publikacja).

#### 4.5 Wykaz wystąpień na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych

Przed doktoratem:

- 14.05.2010 VII Warszawskie Seminarium doktorantów – ChemSession'10, Warszawa, poster, aktywny uczestnik
- 12-15.09.2010 XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Gdańsk, poster, współautor
- 13.05.2011 VIII Warszawskie Seminarium doktorantów – ChemSession'11, Warszawa, poster, aktywny uczestnik
- 8-11.09.2011 IV Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, poster, aktywny uczestnik
- 4-5.10.2011 The Modern Techniques for Drug Design Purposes, Warszawa, poster, aktywny uczestnik
- 10.05.2012 IX Warszawskie Seminarium doktorantów – ChemSession'12, Warszawa, poster, aktywny uczestnik
- 13-15.06.2012 VI Kopernikańskie Seminarium Doktorantów, Toruń, poster, aktywny uczestnik
- 13-15.09.2012 V Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, poster, aktywny uczestnik
- 17-19.06.2015 II Symposium "Szkoła Chemii Medycznej" Wrocław, poster, aktywny uczestnik
- 14-16.09.2015 Frontiers in Medicinal Chemistry, Antwerpii, Belgia, poster, aktywny uczestnik

Po doktoracie:

- 28.06.2016 „Synteza i biologiczna aktywność pochodnych pirolidyno-2,5-dionu o potencjalnym działaniu przeciwdepresyjnym” - wykład na zaproszenie Oddziału Warszawskiego Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego
- 28.08-1.09.2016 XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry, Manchester, Manchester, poster, aktywny uczestnik
- 26-28.05.2022 ACCORD 2022. Interdisciplinary Conference on Drug Sciences, Warszawa, poster, aktywny uczestnik
- 4-8.09.2022 EFMC-ISMIC 2022 XXVII EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry, Nice, Francja, poster, aktywny uczestnik
- 23-25.05.2024 ACCORD 2024. Interdisciplinary Conference on Drug Sciences, Warszawa, poster, aktywny uczestnik
- 5-9.10.2024 Neuroscience 2024, Chicago, Stany Zjednoczone, poster, współautor
- 4.03.2025 20th EFMC Young Scientists Network MedChemBioOnline Symposium, aktywny uczestnik
- 3.04.2025 X Minisymposium Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym, Warszawa, poster, współautor
- 11-13.04.2025 20th Warsaw International Medical Congress, Warszawa, prezentacja, współautor

## 5. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.

### 5.1 Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne

#### PRACE MAGISTERSKIE

**Byłam opiekunem lub promotorem 14 prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym WUM:**

1. „Synteza pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)-pirolidyno-2,5-dionu, o powinowactwie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i białka SERT” Katarzyna Mamla
2. „Synteza pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)-pirolidyno-2,5-dionu – związków o podwójnej wiązalności do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i białka SERT” Emilia Kryszk
3. „Synteza nowych pochodnych 3-(1*H*-indol-3-ilo)-pirolidyno-2,5-dionu - związków o potencjalnym działaniu przeciwdepresyjnym” Łukasz Żaba
4. „Poszukiwanie nowych antydepresantów III-ciej generacji w grupie SSRI+, pochodnych pirolidyno-2,5-dionu” Ewelina Tarnowska
5. „Synteza nowych arylopiperazynowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu ligandów serotoninowego receptora 5-HT<sub>1A</sub>„ Monika Marciniak
6. „Poszukiwania pochodnych 3-piperydyn-3-ylo-1*H*-indolu pirolidyno-2,5-dionu, o potencjalnym działaniu antydepresyjnym” Joanna Polska
7. „Synteza pochodnych 1*H*-indazolo-3-karboksyamidów potencjalnych atypowych neuroleptyków III-generacji” Karolina Mirecka
8. „Synteza cyklicznego peptydu, analogu sekwencji PTS1” Aleksandra Biłant
9. „Synteza i analiza wpływu modyfikacji strukturalnych na powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT nowych pochodnych pirolidyno-2,5-dionu w grupie piperydyn-3-ylo-1*H*-indolu” Michał Komorowski
10. „Synteza nowych inhibitorów interakcji CPAP-tubuliny w grupie pochodnych benzo[*b*][1,6]naftyrydyny” Zuzanna Jachimczak
11. „Otrzymanie sulfoksyminowych analogów  $\alpha$ -aminonitryli o potencjalnym działaniu biologicznym” Mateusz Lewandowski
12. „Synteza pochodnych arylo- $\alpha$ -aminonitryli, o potencjalnym działaniu biologicznym” Gabriela Zyglińska
13. „Synteza pochodnych  $\alpha$ -[dimetylo(okso)sulfanylideno]aminokwasów - analogów  $\alpha$ -aminokwasów naturalnych i nienaturalnych” Izabela Józwiuk

14. „Otrzymywanie nowych analogów  $\alpha$ -arylo- $\alpha$ -aminonitryli i  $\alpha$ -aminokwasów, pochodnych sulfoksymin.” Zofia Korpusik

Pełniłam też rolę recenzenta 5 prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym WUM oraz byłam opiekunem studentów z organizacji EPSA w 2010 roku i 2011 roku podczas ich letnich praktyk miesięcznych w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej na Wydziale Farmaceutycznym WUM.

## ZAJĘCIA DYDAKTYCZNE

Kierunek Farmacja, Wydział Farmaceutyczny WUM:

- od 2012 prowadzę laboratoria, seminaria i wykłady z przedmiotu „Synteza i technologia środków leczniczych”,
- 2012 – 2016 prowadziłam laboratoria z przedmiotu „Biotechnologia Farmaceutyczna”,
- **od 2018 jestem osobą odpowiedzialną za organizację, koordynowanie i sylabus zajęć dla Bloku Fakultatywnego Bloku Farmacja Przemysłowa i Biotechnologia Farmaceutyczna (FPiBF).** Aby podnieść swoje kompetencje w obszarze farmacji przemysłowej i nabyć wiedzę na temat wytwarzania form gotowych w skali przemysłowej **odbyłam miesięczną praktykę zawodową 4 – 29 listopada 2019 w dziale Wytwórnia Leków Gotowych w Gedeon Richter Sp. z o.o w Grodzisku Mazowieckim**, opiekunem praktyk była mgr. Agnieszka Zarczuk (Zastępca Dyrektora Produkcji i Logistyki ds. wytwarzania),
- 2019-2020 zostałam powołana na Członka Rady Programowej: Fakultatywnego Bloku Programowego,
- od 2019 jestem Członkiem Komisji Rekrutacyjnej Fakultatywnych Bloków Programowych,
- od 2012 prowadzę laboratoria a od 2018 jestem **kierownikiem przedmiotu „Przemysłowa Technologia Leku Syntetycznego”** dla którego tworzyłam nowe materiały dydaktyczne. W wyniku moich starań WUM podpisał List Intencyjny, Porozumienie a następnie Umowę w sprawie współpracy przy realizacji zajęć dydaktycznych z Siecią Badawczą Łukasiewicz – Instytutem Chemii Przemysłowej imienia Profesora Ignacego Mościckiego w Warszawie, dzięki której studenci w ramach mojego przedmiotu mogą korzystać z infrastruktury IChP. Dużym sukcesem było też nawiązanie przeze mnie od 2018 roku trwałej współpracy

dydaktycznej z firmami farmaceutycznymi: Gedeon Richter Polska Sp. z o.o, Celon Pharma s.a oraz Grand Medical Poland Sp. z o.o.,

- w 2021 byłam **odpowiedzialna za stworzenie programu zajęć** i sylabus przedmiotu „Cykl życia leku. Od pomysłu do wdrożenia” którym kieruję i prowadzę wykłady lub seminaria,
- w 2023 byłam **odpowiedzialna za współtworzenie programu zajęć** i sylabus przedmiotu „Rola farmaceuty i jego miejsce w przemyśle farmaceutycznym” którym kieruję i prowadzę seminaria.

#### STUDENCKIE KOŁO NAUKOWE SYNTEZY I TECHNOLOGII LEKÓW „SYNTHESIS” – OPIEKUN

Od 2015 jestem **opiekunem SKN „Synthesis”**, którego członkowie brali udział w wielu projektach naukowych, publikowali w renomowanych **czasopismach z listy filadelfijskiej** oraz brali udział w szkoleniach, warsztatach oraz konferencjach krajowych i międzynarodowych, w liczbach:

- Realizacja 7 mini-gratów
- 4 wystąpienia/postery na konferencjach krajowych i 11 na konferencjach międzynarodowych
- 9 publikacji

#### OPIEKUN MINI-GRANTÓW STUDENCKICH WUM

1. „Synteza nowych, nienaturalnych aminokwasów jako bloków budulcowych do syntezy analogów peptydów o potencjalnej aktywności biologiczne” kierownik Kamila Swatowska
2. „Synteza pochodnych 1*H*-indazolo-3-karboksyamidów potencjalnych atypowych neuroleptyków III-generacji.” kierownik Karolina Mirecka
3. „Synteza i ocena wpływu rodzaju podstawnika halogenowego na powinowactwo do receptora 5-HT<sub>1A</sub> i SERT nowych pochodnych piroolidyno-2,5-dionu w grupie piperidyn-3-ylo-1*H*-indolu” kierownik Michał Komorowski

## 5.2 Osiągnięcia popularyzujące naukę

- W 2016 współorganizowałam razem z Biblioteką WUM ogólnouczelniane „Szkolenie z medycznych baz danych Elsevier- Reaxys i ScienceDirect”,
- Razem z SKN „Synthesis”, którego jestem opiekunem od 2018 **współtworzyłam Festiwal Kół Naukowych na Wydziale Farmaceutycznym WUM**, Targi Kół Naukowych na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym oraz 17.10.2022 „Dzień otwarty WUM”,
- od 2022 organizuję warsztaty z dr Michałem Nowackim z Katedry i Zakładu Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z „Planowania syntezy związków organicznych” i „ Interpretacji widm NMR związków organicznych”,
- od 2019 roku pełnię rolę recenzenta i/lub jurora z Wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich, Wydziału Farmaceutycznego WUM,
- należałam do komitetu organizacyjnego Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego oraz Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych „Postęp współczesnej farmacja – nauka i przemysł” – 2020,
- od 2024 roku jestem recenzentem w ramach Warsaw International Medical Congress – WIMC,
- pełniłam rolę Chairpersons na międzynarodowej konferencji ACCORD 2022 oraz ACCORD 2024, Interdisciplinary Conference on Drug Sciences.

## RECENZOWANIE PRAC NAUKOWYCH

Wykaz recenzowanych prac naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

Wykonałam 9 recenzji w standardzie peer review dla 5 publikacji (na podstawie zestawiania zweryfikowanego i opublikowanego przez ORCID oraz Web of Science):

- |                                         |            |
|-----------------------------------------|------------|
| 1. Bioorganic chemistry, IF= 4,5        | 4 recenzje |
| 2. ChemistrySelect, IF=1,9              | 1 recenzje |
| 3. ChemMedChem, IF=3,6                  | 3 recenzje |
| 4. Medicinal Chemistry Research, IF=2,3 | 1 recenzja |

i innych czasopism spoza bazy ORCID, m.in. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej oraz Prospects in Pharmaceutical Sciences (fka. Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego)

6. OPRÓCZ KWESTII WYMIENIONYCH W PKT. 1-6, WNIOSKODAWCA MOŻE PODAĆ INNE INFORMACJE, WAŻNE Z JEGO PUNKTU WIDZENIA, DOTYCZĄCE JEGO KARIERY ZAWODOWEJ.

**Dane naukometryczne:**

Wartość wskaźnika IF: **61,668**

Łączna wartość punktacji MEiN: **1320,000**

Cytowania (Web of Science Core Collection): **148**

Cytowania bez autocytowań (Web of Science Core Collection): **135**

Index H=7 (Web of Science Core Collection)

Cytowania (Scopus): **155**

Cytowania bez autocytowań (Scopus): **142**

Index H=7 (Scopus)

**Nagrody:**

- nagroda naukowa II stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu medycznego za osiągnięcia naukowe, 2024
- nagroda naukowa III stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu medycznego za osiągnięcia naukowe, 2020
- nagroda naukowa II stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu medycznego za osiągnięcia naukowe, 2016
- nagroda naukowa II stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu medycznego za osiągnięcia naukowe, 2015
- nagroda naukowa III stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu medycznego za osiągnięcia naukowe 2013
- zajęcie I miejsca na najlepszy poster w sesji plakatowej na VI Kopernikańskim Seminarium Doktorantów, Toruń 2012

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>.
2. Wang, S.; Han, C.; Lee, S.; Patkar, A.A.; Masand, P.S.; Pae, C. Vilazodone for the Treatment of Major Depressive Disorder : Focusing on Its Clinical Studies and Mechanism of Action. *Psychiatry Investig* **2015**, *12*, 155–163.
3. Intagliata, S.; Modica, M.N.; Pittalà, V.; Salerno, L.; Siracusa, M.A.; Cagnotto, A.; Salmona, M.; Kurczab, R.; Romeo, G. New N- and O-Arylpiperazinylalkyl Pyrimidines and 2-Methylquinazolines Derivatives as 5-HT<sub>7</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Ligands: Synthesis, Structure-Activity Relationships, and Molecular Modeling Studies. *Bioorganic Med. Chem.* **2017**, *25*, 1250–1259, doi:10.1016/j.bmc.2016.12.039.
4. Gu, Z.S.; Zhou, A.; Xiao, Y.; Zhang, Q.W.; Li, J.Q. Synthesis and Antidepressant-like Activity of Novel Arylalkyl Piperazine Derivatives Targeting SSRI/5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>7</sub>. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *144*, 701–715, doi:10.1016/j.ejmech.2017.12.063.
5. Citrome, L. The ABC's of Dopamine Receptor Partial Agonists - Aripiprazole, Brexpiprazole and Cariprazine: The 15-Min Challenge to Sort These Agents Out. *Int. J. Clin. Pract.* **2015**, *69*, 1211–1220, doi:10.1111/ijcp.12752.
6. Frampton, J.E. Vilazodone: In Major Depressive Disorder. *CNS Drugs* **2011**, *25*, 615–627, doi:10.2165/11207550-000000000-00000.
7. Sanchez, C.; Asin, K.E.; Artigas, F. Vortioxetine, a Novel Antidepressant with Multimodal Activity: Review of Preclinical and Clinical Data. *Pharmacol. Ther.* **2015**, *145*, 43–57, doi:10.1016/j.pharmthera.2014.07.001.
8. <http://www.guidetopharmacology.org/>.
9. Zhao, F.; Cheng, Z.; Piao, J.; Cui, R.; Li, B. Dopamine Receptors: Is It Possible to Become a Therapeutic Target for Depression? *Front. Pharmacol.* **2022**, *13*, 1–25, doi:10.3389/fphar.2022.947785.
10. Grace, A.A. Dysregulation of the Dopamine System in the Pathophysiology of Schizophrenia and Depression. *Nat Rev Neurosci.* **2017**, *17*, 524–532, doi:10.1038/nrn.2016.57.
11. Löber, S.; Hübner, H.; Tschammer, N.; Gmeiner, P. Recent Advances in the Search for D<sub>3</sub>- and D<sub>4</sub>- Selective Drugs: Probes, Models and Candidates. *Trends Pharmacol. Sci.* **2011**, *32*, 148–157, doi:10.1016/j.tips.2010.12.003.
12. Haleem, D.J. 5-HT<sub>1A</sub> Receptor-Dependent Control of Nigrostriatal Dopamine Neurotransmission in the Pharmacotherapy of Parkinson's Disease and Schizophrenia. *Behav. Pharmacol.* **2015**, *26*, 45–58, doi:10.1097/FBP.0000000000000123.
13. Meltzer, H.Y.; Sumiyoshi, T. Does Stimulation of 5-HT<sub>1A</sub> Receptors Improve Cognition in Schizophrenia? *Behav. Brain Res.* **2008**, *195*, 98–102, doi:10.1016/j.bbr.2008.05.016.
14. Butini, S.; Campiani, G.; Franceschini, S.; Trotta, F.; Kumar, V.; Guarino, E.; Borrelli, G.; Fiorini, I.; Novellino, E.; Fattorusso, C.; et al. Discovery of Bishomo(Hetero)Arylpiperazines as Novel Multifunctional Ligands Targeting Dopamine D<sub>3</sub> and Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptors. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4803–4807, doi:10.1021/jm100294b.
15. Lin, J.; Liu, W.; Guan, J.; Cui, J.; Shi, R.; Wang, L.; Chen, D.; Liu, Y. Latest Updates on the Serotonergic System in Depression and Anxiety. *Front. Synaptic Neurosci.* **2023**, *15*, doi:10.3389/fnsyn.2023.1124112.
16. Żmudzka, E.; Sałaciak, K.; Sapa, J.; Pytko, K. Serotonin Receptors in Depression and Anxiety: Insights from Animal Studies. *Life Sci.* **2018**, *210*, 106–124, doi:10.1016/j.lfs.2018.08.050.
17. Frankel, J.S.; Schwartz, T.L. Brexpiprazole and Cariprazine: Distinguishing Two New Atypical Antipsychotics from the Original Dopamine Stabilizer Aripiprazole. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* **2017**, *7*, 29–41, doi:10.1177/2045125316672136.
18. Grace, A.A. Dysregulation of the Dopamine System in the Pathophysiology of Schizophrenia and Depression. *Nat. Rev. Neurosci.* **2016**, *17*, 524–532, doi:10.1038/nrn.2016.57.
19. Meltzer, H.Y.; Massey, B.W. The Role of Serotonin Receptors in the Action of Atypical Antipsychotic Drugs. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2011**, *11*, 59–67, doi:10.1016/j.coph.2011.02.007.
20. Sumiyoshi, T.; Kunugi, H.; Nakagome, K. Serotonin and Dopamine Receptors in Motivational and Cognitive Disturbances of Schizophrenia. *Front. Neurosci.* **2014**, *8*, 1–5, doi:10.3389/fnins.2014.00395.
21. Meltzer, H.Y.; Matsubara, S.; Lee, J.-C.C. Classification of Typical and Atypical Antipsychotic Drugs on the Basis of Dopamine D<sub>1</sub>-, D<sub>2</sub>- and Serotonin<sub>2</sub> PK<sub>i</sub> Values. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1989**, *251*, 238–246.
22. Franklin, R.; Zorowitz, S.; Corse, A.K.; Widge, A.S.; Deckersbach, T. Lurasidone for the Treatment of Bipolar Depression: An Evidence-Based Review. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **2015**, *11*, 2143–2152, doi:10.2147/NDT.S50961.
23. Westrich, L.; Haddjeri, N.; Dkhissi-Benyahya, O.; Sánchez, C. Involvement of 5-HT<sub>7</sub> receptors in Vortioxetine's Modulation of Circadian Rhythms and Episodic Memory in Rodents. *Neuropharmacology* **2015**, *89*, 382–390, doi:10.1016/j.neuropharm.2014.10.015.

24. Chen, X.; Jin, Z.; Gong, Y.; Zhao, N.; Wang, X.; Ran, Y.; Zhang, Y.; Zhang, L.; Li, Y.-F. 5-HT 6 Receptor Agonist and Memory-Enhancing Properties of Hypidone Hydrochloride (YL-0919), a Novel 5-HT 1A Receptor Partial Agonist and SSRI. *Neuropharmacology* **2018**, *138*, 1–9, doi:10.1016/j.neuropharm.2018.05.027.
25. Ferrero, H.; Solas, M.; Francis, P.T.; Ramirez, M.J. Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonists in Alzheimer's Disease: Therapeutic Rationale and Current Development Status. *CNS Drugs* **2017**, *31*, 19–32, doi:10.1007/s40263-016-0399-3.
26. Subbaiah, M.A.M. Triple Reuptake Inhibitors as Potential Therapeutics for Depression and Other Disorders: Design Paradigm and Developmental Challenges. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 2133–2165, doi:10.1021/acs.jmedchem.6b01827.
27. Prica, C.; Hascoet, M.; Bourin, M. Is Co-Administration of Bupropion with SSRIs and SNRIs in Forced Swimming Test in Mice, Predictive of Efficacy in Resistant Depression? *Behav. Brain Res.* **2008**, *194*, 92–99, doi:10.1016/j.bbr.2008.06.028.
28. Chen, Y.; Song, J.; Cui, Y.; Zhou, L. Five Trends of China's Pharmaceutical Industry in 2022. *Acta Pharm. Sin. B* **2023**, *13*, 2812–2814, doi:10.1016/j.apsb.2023.04.004.
29. Millan, M.J. Multi-Target Strategies for the Improved Treatment of Depressive States: Conceptual Foundations and Neuronal Substrates, Drug Discovery and Therapeutic Application. *Pharmacol. Ther.* **2006**, *110*, 135–370, doi:10.1016/j.pharmthera.2005.11.006.
30. Herold, F.; Król, M.; Kleps, J. Synthesis of New Hexahydro- and Octahydropyrido[1,2-c]Pyrimidine Derivatives with an Arylpiperazine Moiety as Ligands for 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptors. Part III. *Acta Pol. Pharm.* **2004**, *61*, 139–150.
31. Herold, F.; Kleps, J.; Nowak, G.; Maj, M. Synthesis of New Hexahydro- and Octahydropyrido[1,2-c]Pyrimidine Derivatives with an Arylpiperazine Moiety as Ligands for 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptors, Part 2. *Pharmazie* **2004**, *59*, 99–105.
32. Herold, F.; Król, M.; Kleps, J.; Nowak, G. Synthesis of New Hexahydro- and Octahydropyrido[1,2-c]Pyrimidine Derivatives with an Arylpiperazine Moiety as Ligands for 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptors. Part 4. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 125–134, doi:10.1016/j.ejmech.2005.09.003.
33. Herold, F.; Izbecki, Ł.; Chodkowski, A.; Dawidowski, M.; Król, M.; Kleps, J.; Turło, J.; Wolska, I.; Nowak, G.; Stachowicz, K.; et al. Novel 4-Aryl-Pyrido[1,2-c]Pyrimidines with Dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> Activity: Part 2. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4702–4715, doi:10.1016/j.ejmech.2009.07.007.
34. Herold, F.; Chodkowski, A.; Izbecki, Ł.; Turło, J.; Dawidowski, M.; Kleps, J.; Nowak, G.; Stachowicz, K.; Dybała, M.; Siwek, A.; et al. Novel 4-Aryl-Pyrido[1,2-c]Pyrimidines with Dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> Activity. Part 3. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 142–149, doi:10.1016/j.ejmech.2010.10.026.
35. Herold, F.; Chodkowski, A.; Izbecki, Ł.; Król, M.; Kleps, J.; Turło, J.; Nowak, G.; Stachowicz, K.; Dybała, M.; Siwek, A. Novel 4-Aryl-Pyrido[1,2-c]Pyrimidines with Dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> Activity, Part 1. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1710–1717, doi:10.1016/j.ejmech.2008.09.021.
36. Chodkowski, A.; Wróbel, M.Z.; Turło, J.; Kleps, J.; Siwek, A.; Nowak, G.; Belka, M.; Bączek, T.; Herold, F.; Mazurek, A.P.; et al. Novel 4-Aryl-Pyrido[1,2-c]Pyrimidines with Dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> Activity. Part 4. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *90*, 21–32, doi:10.1016/j.ejmech.2014.10.069.
37. Owens, M.J.; Morgan, W.N.; Plott, S.J.; Nemeroff, C.B. Neurotransmitter Receptor and Transporter Binding Profile of Antidepressants and Their Metabolites. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *283*, 1305–1322.
38. Goodwin, G.M.; De Souza, R.J.; Green, A.R. The Pharmacology of the Hypothermic Response in Mice to 8-Hydroxy-2-(Di-n-Propylamino)Tetralin (8-OH-DPAT). A Model of Presynaptic 5-HT<sub>1</sub> Function. *Neuropharmacology* **1985**, *24*, 1187–1194, doi:10.1016/0028-3908(85)90153-4.
39. Middlemiss, D.N.; Fozard, J.R. 8-Hydroxy-2-(Di-n-Propylamino) Tetralin Discriminates between Subtypes of the 5-HT<sub>1</sub> Recognition Site. *Eur. J. Pharmacol.* **1983**, *90*, 151–153.
40. Gomółka, A.; Ciesielska, A.; Wróbel, M.Z.; Chodkowski, A.; Kleps, J.; Dawidowski, M.; Siwek, A.; Wolak, M.; Stachowicz, K.; Sławińska, A.; et al. Novel 4-Aryl-Pyrido[1,2-c]Pyrimidines with Dual SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> Activity. Part 5. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *98*, 221–236, doi:10.1016/j.ejmech.2015.05.003.
41. Ulenberg, S.; Georgiev, P.; Belka, M.; Ślifierski, G.; Wróbel, M.; Chodkowski, A.; Król, M.; Herold, F.; Bączek, T. Understanding Performance of 3D-Printed Sorbent in Study of Metabolic Stability. *J. Chromatogr. A* **2020**, *1629*, 461501, doi:10.1016/j.chroma.2020.461501.
42. Bojarski, A.J. Pharmacophore Models for Metabotropic 5-HT Receptor Ligands. *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *6*, 2005–2026, doi:10.2174/156802606778522186.
43. Malleron, J.L.; Guérémy, C.; Mignani, S.; Peyronel, J.F.; Truchon, A.; Blanchard, J.C.; Doble, A.; Laduron, P.; Piot, O.; Zundel, J.L. New Indole Derivatives as Potent and Selective Serotonin Uptake Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1194–1202, doi:10.1021/jm00061a010.

44. van Hes, R.; Smid, P.; Kruse, C.G.; Tulp, M.T.M. Tetrahydropyridin-4-Yl Indoles with a Combination of Affinity for Dopamine-D2 Receptors and Serotonin Reuptake Sites 2006.
45. Bojarski, A.J.; Mokrosz, M.J.; Duszyńska, B.; Koziół, A.; Bugno, R. New Imide 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Ligands - Modification of Terminal Fragment Geometry. *Molecules* **2004**, *9*, 170–177, doi:10.3390/90300170.
46. Venkatesan, A.M.; Dos Santos, O.; Ellingboe, J.; Evrard, D. a; Harrison, B.L.; Smith, D.L.; Scerni, R.; Hornby, G. a; Schechter, L.E.; Andree, T.H. Novel Benzofuran Derivatives with Dual 5-HT<sub>1A</sub> Receptor and Serotonin Transporter Affinity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 824–827, doi:10.1016/j.bmcl.2009.12.093.
47. Oh, S.J.; Ha, H.J.; Chi, D.Y.; Lee, H.K. Serotonin Receptor and Transporter Ligands - Current Status. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 999–1034.
48. Lopez-Rodriguez, M.L.; Morcillo, M.J.; Rovat, T.K.; Fernández, E.; Vicente, B.; Sanz, A.M.; Hernández, M.; Orensanz, L. Synthesis and Structure-Activity Relationships of a New Model of Arylpiperazines . 4 . 1 1- [ ω- ( 4-Arylpiperazin-1-Yl ) Alkyl ] - 3- ( Diphenylmethylene ) - Study of the Steric Requirements of the Terminal Amide Fragment on 5-HT 1A Affinity / Selectivity. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 36–49.
49. Pawłowski, M.; Chłóń, G.; Obniska, J.; Zejc, A.; Charakchieva-Minol, S.; Mokrosz, M.J. Synthesis, 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptor Affinity of New 1-Phenylpiperazinylpropyl Derivatives of Purine-2,6- and Pyrrolidine-2,5-Diones. *Farm.* **2000**, *55*, 461–468.
50. Zajdel, P.; Subra, G.; Verdie, P.; Bojarski, A.J.; Duszyńska, B.; Basista, K.; Obniska, J.; Martinez, J.; Pawłowski, M. The Influence of an Ethylene Spacer on the 5-HT(1A) and 5-HT(2A) Receptor Affinity of Arylpiperazine Derivatives of Amides with N-Acylated Amino Acids and 3-Differently Substituted Pyrrolidine-2,5-Diones. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 800–808, doi:10.1016/j.ejmech.2008.05.021.
51. Paluchowska, M.H.; Mokrosz, M.J.; Bojarski, A.; Wesołowska, A.; Borycz, J.; Charakchieva-Minol, S.; Chojnacka-Wójcik, E. On the Bioactive Conformation of NAN-190 (1) and MP3022 (2), 5-HT(1A) Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4952–4960.
52. López-Rodríguez, M.L.; Rosado, M.L.; Benhamú, B.; Morcillo, M.J.; Sanz, A.M.; Orensanz, L.; Beneitez, M.E.; Fuentes, J.A.; Manzanares, J. Synthesis and Structure–Activity Relationships of a New Model of Arylpiperazines. 1. 2-[[4-( o - Methoxyphenyl)Piperazin-1-Yl]Methyl]-1,3- Dioxoperhydroimidazo[1,5- a ]Pyridine: A Selective 5-HT 1A Receptor Agonist. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4439–4450, doi:10.1021/jm960416g.
53. Matzen, L.; van Amsterdam, C.; Rautenberg, W.; Greiner, H.E.; Harting, J.; Seyfried, C. a; Böttcher, H. 5-HT Reuptake Inhibitors with 5-HT 1B/1D Antagonistic Activity: A New Approach toward Efficient Antidepressants. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1149–1157, doi:10.1021/jm9811054.
54. Deskus, J.A.; Epperson, J.R.; Sloan, C.P.; Cipollina, J.A.; Dextraze, P.; Qian-Cutrone, J.; Gao, Q.; Ma, B.; Beno, B.R.; Mattson, G.K.; et al. Conformationally Restricted Homotryptamines 3. Indole Tetrahydropyridines and Cyclohexenylamines as Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3099–3104, doi:10.1016/j.bmcl.2007.03.040.
55. Van Hes, R.; Van Der Heijden, J.A.M.; Kruse, C.G.; Tipker, J.; Tulp, M.T.M.; Visser, G.M.; Van Vliet, B.J. 3-Tetrahydropyridin-4-Yl Indoles for Treatment of Psychotic Disorders. *US6391896 B1* **2002**.
56. van Hes, R.; Smid, P.; Stroome, C.N.J.; Tipker, K.; Tulp, M.T.M.; van der Heyden, J. a M.; McCreary, A.C.; Hesselink, M.B.; Kruse, C.G.; Heyden, J.A.M. Van Der SLV310 , a Novel , Potential Antipsychotic , Combining Potent Dopamine D 2 Receptor Antagonism with Serotonin Reuptake Inhibition. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 405–408.
57. Bergman, J.; Desarbre, E.; Koch, E. Synthesis of Indolo[3,2-a]Pyrrolo[3,4-c]Carbazole in One Step from Indole and Maleimide. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 2363–2370, doi:10.1016/S0040-4020(99)00029-0.
58. Hénon, H.; Messaoudi, S.; Hugon, B.; Anizon, F.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. Synthesis of Granulatimide Bis-Imide Analogues. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 5599–5614, doi:10.1016/j.tet.2005.03.101.
59. Macor, J.E.; Blank, D.H.; Ryan, K.; Post, R.J. A Direct Synthesis of 3-(Pyrrolidin-3-Yl)Indoles for Use As Conformationally Restricted Analogs of Tryptamines. *Synthesis (Stuttg).* **1997**, *1997*, 443–449, doi:10.1055/s-1997-1214.
60. *Schrödinger Suite 2008, Glide Version 5.0, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2006;*
61. Discovery StudioClient V2.5.5.9350, Accelrys Software Inc.
62. Ślifirski, G.; Król, M.; Kleps, J.; Ulenberg, S.; Belka, M.; Bączek, T.; Siwek, A.; Stachowicz, K.; Szweczyk, B.; Nowak, G.; et al. Synthesis of Novel Pyrido[1,2-c]Pyrimidine Derivatives with Rigidized Tryptamine Moiety as Potential SSRI and 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *166*, 144–158, doi:10.1016/j.ejmech.2019.01.031.
63. Burm, B.E.A.; Gremmen, C.; Wanner, M.J.; Koomen, G. Synthesis of New Bridged Tetrahydro-b-Carbolines and Spiro-Fused Quinuclidines. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 2039–2049.

64. Cole, D.C.; Lennox, W.J.; Stock, J.R.; Ellingboe, J.W.; Mazandarani, H.; Smith, D.L.; Zhang, G.; Tawa, G.J.; Schechter, L.E. Conformationally Constrained N1-Arylsulfonyltryptamine Derivatives as 5-HT<sub>6</sub>receptor Antagonists. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4780–4785, doi:10.1016/j.bmcl.2005.07.028.
65. Murphy, C.D.; Sandford, G. Recent Advances in Fluorination Techniques and Their Anticipated Impact on Drug Metabolism and Toxicity. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2015**, *11*, 589–599, doi:10.1517/17425255.2015.1020295.
66. Rudik, A. V.; Dmitriev, A. V.; Lagunin, A.A.; Filimonov, D.A.; Poroikov, V. V. Metabolism Site Prediction Based on Xenobiotic Structural Formulas and PASS Prediction Algorithm. *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54*, 498–507, doi:10.1021/ci400472j.
67. Caccia, S. N-Dealkylation of Arylpiperazine Derivatives: Disposition and Metabolism of the 1-Aryl-Piperazines Formed. *Curr. Drug Metab.* **2007**, *8*, 612–622.
68. Tandon, M.; O'Donnell, M.-M.; Porte, A.; Vensel, D.; Yang, D.; Palma, R.; Beresford, A.; Ashwell, M.A. The Design and Preparation of Metabolically Protected New Arylpiperazine 5-HT<sub>1A</sub> Ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1709–1712, doi:10.1016/j.bmcl.2004.01.045.
69. Gintant, G.; Sager, P.T.; Stockbridge, N. Evolution of Strategies to Improve Preclinical Cardiac Safety Testing. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2016**, *15*, 457–471, doi:10.1038/nrd.2015.34.
70. Trumpp-Kallmeyer, S.; Hoflack, J.; Bruinvels, A.; Hibert, M. Modeling of G-Protein-Coupled Receptors: Application to Dopamine, Adrenaline, Serotonin, Acetylcholine, and Mammalian Opsin Receptors. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3448–3462, doi:10.1021/jm00097a002.
71. Partyka, A.; Chłóń-Rzepa, G.; Wasik, A.; Jastrzębska-Więsek, M.; Bucki, A.; Kołaczowski, M.; Satała, G.; Bojarski, A.J.; Wesołowska, A. Antidepressant- and Anxiolytic-like Activity of 7-Phenylpiperazinylalkyl-1,3-Dimethyl-Purine-2,6-Dione Derivatives with Diversified 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Functional Profile. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 212–221, doi:10.1016/j.bmc.2014.11.008.
72. Zajdel, P.; Marciniak, K.; Maślankiewicz, A.; Satała, G.; Duszyńska, B.; Bojarski, A.J.; Partyka, A.; Jastrzębska-Więsek, M.; Wróbel, D.; Wesołowska, A.; et al. Quinoline- and Isoquinoline-Sulfonamide Derivatives of LCAP as Potent CNS Multi-Receptor–5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>2A</sub>/5-HT<sub>7</sub> and D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>/D<sub>4</sub>–Agents: The Synthesis and Pharmacological Evaluation. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 1545–1556, doi:10.1016/j.bmc.2011.12.039.
73. Wesołowska, A.; Borycz, J.; Paluchowska, M.H.; Chojnacka-Wójcik, E. Pharmacological Analysis of the Hypothermic Effects of NAN-190 and Its Analogs, Postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Antagonists, in Mice. *Pol. J. Pharmacol.* **2002**, *54*, 391–399.
74. Bojarski, A.J.; Paluchowska, M.H.; Duszyńska, B.; Kłodzińska, A.; Tatarczyńska, E.; Chojnacka-Wójcik, E. 1-Aryl-4-(4-Succinimidobutyl)Piperazines and Their Conformationally Constrained Analogues: Synthesis, Binding to Serotonin (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>7</sub>), Alpha<sub>1</sub>-Adrenergic, and Dopaminergic D<sub>2</sub> Receptors, and in Vivo 5-HT<sub>1A</sub> Functional Characteristics. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2293–2303, doi:10.1016/j.bmc.2004.12.041.
75. Mokrosz, J.L.; Paluchowska, M.H.; Kłodzińska, A.; Charakchieva-Minol, S.; Chojnacka-Wójcik, E. Structure-Activity Relationship Studies of CNS Agents, Part 26 4-[2-(Cycloalkancarboxamido)Ethyl]-1-(2-Methoxyphenyl)-Piperazines: High-Affinity 5-HT<sub>1A</sub> Agonists. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **1995**, *328*, 770–774, doi:10.1002/ardp.19953281108.
76. Paluchowska, M.H.; Mokrosz, M.J.; Charakchieva-Minol, S.; Duszyńska, B.; Koziół, A.; Wesołowska, A.; Stachowicz, K.; Chojnacka-Wójcik, E. Novel 4-Alkyl-1-Arylpiperazines and 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolines Containing Diphenylmethylamino or Diphenylmethoxy Fragment with Differentiated 5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>2A</sub>/D<sub>2</sub> Receptor Activity. *Pol. J. Pharmacol.* **2003**, *55*, 543–552.
77. Boksa, J.; Mokrosz, M.J.; Charakchieva-Minol, S.; Tatarczyńska, E.; Kłodzińska, A.; Wesołowska, A.; Misztal, S. 2-H- and 2-Acyl-9- [Omega-[4-(2-Methoxyphenyl)Piperazinyl]-Alkyl]-1,2,3,4-Tetrahydro-Beta-Carbolines as Ligands of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptors. *Pol. J. Pharmacol.* **2001**, *53*, 501–508.
78. Pawłowski, M.; Chłóń, G.; Obniska, J.; Zejc, A.; Charakchieva-Minol, S.; Mokrosz, M.J. Synthesis, 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptor Affinity of New 1-Phenylpiperazinylpropyl Derivatives of Purine-2,6- and Pyrrolidine-2,5-Diones. *Farmaco* **55**, 461–468.
79. Byrtus, H.; Pawłowski, M.; Charakchieva-Minol, S.; Duszyńska, B.; Mokrosz, M.J.; Mokrosz, J.L.; Zejc, A. 3-(Omega-Aminoalkyl)-5,5-Dialkyl(or Spirocycloalkyl-1',5-)Hydantoins as New 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> Receptor Ligands. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **1996**, *329*, 283–290.
80. Mokrosz, J.L.; Bojarski, A.J.; Charakchieva-Minol, S.; Duszyńska, B.; Mokrosz, M.J.; Paluchowska, M.H. Structure-Activity Relationship Studies of CNS Agents, Part 23: N-(3-Phenylpropyl)- and N-[(E)-Cinnamyl]-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline Mimic 1-Phenylpiperazine at 5-HT<sub>1A</sub> Receptors. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **328**, 604–608.
81. Partyka, A.; Kurczab, R.; Canale, V.; Satała, G.; Marciniak, K.; Pasierb, A.; Jastrzębska-Więsek, M.; Pawłowski, M.; Wesołowska, A.; Bojarski, A.J.; et al. The Impact of the Halogen Bonding on D<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>7</sub>receptor Activity of Azinesulfonamides of

- 4-[(2-Ethyl)Piperidinyl-1-Yl]Phenylpiperazines with Antipsychotic and Antidepressant Properties. *Bioorganic Med. Chem.* **2017**, *25*, 3638–3648, doi:10.1016/j.bmc.2017.04.046.
82. Wilcken, R.; Zimmermann, M.O.; Lange, A.; Zahn, S.; Boeckler, F.M. Using Halogen Bonds to Address the Protein Backbone: A Systematic Evaluation. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2012**, *26*, 935–945, doi:10.1007/s10822-012-9592-8.
83. González-Gómez, J.C.; Santana, L.; Uriarte, E.; Brea, J.; Villazón, M.; Loza, M.I.; De Luca, M.; Rivas, M.E.; Montenegro, G.Y.; Fontenla, J.A. New Arylpiperazine Derivatives with High Affinity for A1A, D2 and 5-HT2A Receptors. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 175–178, doi:10.1016/S0960-894X(02)00933-2.
84. Zlatović, M. V.; Šukalović, V. V.; Schneider, C.; Roglič, G.M. Interaction of Arylpiperazine Ligands with the Hydrophobic Part of the 5-HT 1A Receptor Binding Site. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, *14*, 2994–3001, doi:10.1016/j.bmc.2005.12.023.
85. Cao, Y.; Sun, N.; Zhang, J.; Liu, Z.; Tang, Y. zhe; Wu, Z.; Kim, K.M.; Cheon, S.H. Design, Synthesis, and Evaluation of Bitopic Arylpiperazine-Phthalimides as Selective Dopamine D 3 Receptor Agonists. *Medchemcomm* **2018**, *9*, 1457–1465, doi:10.1039/c8md00237a.
86. Šukalović, V.; Zlatović, M.; Andrić, D.; Roglič, G.; Kostić-Rajačić, S.; Šoškić, V. Modeling of the D 2 Dopamine Receptor Arylpiperazine Binding Site for 1-{2-[5-(1H-Benzimidazole-2-Thione)]Ethyl}-4-Arylpiperazines. *Arch. Pharm. (Weinheim).* **2004**, *337*, 502–512, doi:10.1002/ardp.200400901.
87. Artigas, F.; Bortolozzi, A.; Celada, P. Can We Increase Speed and Efficacy of Antidepressant Treatments? Part I: General Aspects and Monoamine-Based Strategies. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2018**, *28*, 445–456, doi:10.1016/j.euroneuro.2017.10.032.
88. Staroń, J.; Kurczab, R.; Warszycki, D.; Satała, G.; Krawczyk, M.; Bugno, R.; Lenda, T.; Popik, P.; Hogendorf, A.S.; Hogendorf, A.; et al. Virtual Screening-Driven Discovery of Dual 5-HT6/5-HT2A Receptor Ligands with pro-Cognitive Properties. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *185*, 111857, doi:10.1016/j.ejmech.2019.111857.
89. Carr, G. V.; Schechter, L.E.; Lucki, I. Antidepressant and Anxiolytic Effects of Selective 5-HT6 Receptor Agonists in Rats. *Psychopharmacology (Berl).* **2011**, *213*, 499–507, doi:10.1007/s00213-010-1798-7.
90. Partyka, A.; Zagórska, A.; Kotańska, M.; Walczak, M.; Jastrzębska-Więsek, M.; Knutelska, J.; Bednarski, M.; Głuch-Lutwin, M.; Mordyl, B.; Janiszewska, P.; et al. Antidepressant-like Activity and Safety Profile Evaluation of 1H-Imidazo[2,1-f]Purine-2,4(3H,8H)-Dione Derivatives as 5-HT1A Receptor Partial Agonists. *PLoS One* **2020**, *15*, e0237196, doi:10.1371/journal.pone.0237196.
91. Obach, R.S.; Baxter, J.G.; Liston, T.E.; Silber, B.M.; Jones, B.C.; MacIntyre, F.; Rance, D.J.; Wastall, P. The Prediction of Human Pharmacokinetic Parameters from Preclinical and In Vitro Metabolism Data. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *283*, 46–58.
92. Mewshaw, R.E.; Meagher, K.L.; Zhou, P.; Zhou, D.; Shi, X.; Scerni, R.; Smith, D.; Schechter, L.E.; Andree, T.H. Studies toward the Discovery of the next Generation of Antidepressants. Part 2: Incorporating a 5-HT(1A) Antagonist Component into a Class of Serotonin Reuptake Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 307–310, doi:10.1016/S0960-894X(01)00746-6.
93. Han, Y.; Dong, W.; Guo, Q.; Li, X.; Huang, L. The Importance of Indole and Azaindole Scaffold in the Development of Antitumor Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *203*, 112506, doi:10.1016/j.ejmech.2020.112506.
94. Mérour, J.Y.; Routier, S.; Suzenet, F.; Joseph, B. Recent Advances in the Synthesis and Properties of 4-, 5-, 6- or 7-Azaindoles. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 4767–4834, doi:10.1016/j.tet.2013.03.081.
95. Mérour, J.-Y.; Buron, F.; Plé, K.; Bonnet, P.; Routier, S. The Azaindole Framework in the Design of Kinase Inhibitors. *Molecules* **2014**, *19*, 19935–19979, doi:10.3390/molecules191219935.
96. Kannaboina, P.; Mondal, K.; Laha, J.K.; Das, P. Recent Advances in the Global Ring Functionalization of 7-Azaindoles. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 11749–11762, doi:10.1039/d0cc04264a.
97. Kulagowski, J.J.; Broughton, H.B.; Curtis, N.R.; Mawer, I.M.; Ridgill, M.P.; Baker, R.; Emms, F.; Freedman, S.B.; Marwood, R.; Patel, S.; et al. 3-[[4-(4-Chlorophenyl)Piperazin-1-Yl]-Methyl]-1H-Pyrrolo[2,3-b]Pyridine: An Antagonist with High Affinity and Selectivity for the Human Dopamine D4 Receptor. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1941–1942, doi:10.1021/jm9600712.
98. Manepalli, S.; Surratt, C.K.; Madura, J.D.; Nolan, T.L. Monoamine Transporter Structure, Function, Dynamics, and Drug Discovery: A Computational Perspective. *AAPS J.* **2012**, *14*, 820–831, doi:10.1208/s12248-012-9391-0.
99. Meng, Q.; Ren, X.; Wang, R.; Han, Y.; Li, X.; Zhang, Q.; Li, Z.; Wang, Y.; Huang, L.; Yu, H. Design, Synthesis, Anticonvulsant Activity and Structure-Activity Relationships of Novel 7-Azaindole Derivatives. *Bioorg. Chem.* **2023**, *133*, 106430, doi:10.1016/j.bioorg.2023.106430.
100. Zhou, D.; Zhou, P.; Evrard, D. a; Meagher, K.; Webb, M.; Harrison, B.L.; Huryn, D.M.; Golembieski, J.; Hornby, G. a; Schechter, L.E.; et al. Studies toward the Discovery of the next Generation of Antidepressants. Part 6: Dual 5-HT1A Receptor and Serotonin Transporter Affinity within a Class of Arylpiperazinyl-Cyclohexyl Indole Derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6707–6723, doi:10.1016/j.bmc.2008.05.075.

101. Comley, R.A.; Salinas, C.A.; Slifstein, M.; Petrone, M.; Marzano, C.; Bennacef, I.; Shotbolt, P.; Van der Aart, J.; Neve, M.; Iavarone, L.; et al. Monoamine Transporter Occupancy of a Novel Triple Reuptake Inhibitor in Baboons and Humans Using Positron Emission Tomography. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2013**, *346*, 311–317, doi:10.1124/jpet.112.202895.
102. Słowiński, T.; Stefanowicz, J.; Dawidowski, M.; Kleps, J.; Czuczwar, S.; Andres-Mach, M.; Łuszczki, J.J.; Nowak, G.; Stachowicz, K.; Szewczyk, B.; et al. Synthesis and Biological Investigation of Potential Atypical Antipsychotics with a Tropane Core. Part 1. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 4474–4488, doi:10.1016/j.ejmech.2011.07.022.
103. Kaczor, A.A.; Silva, A.G.; Loza, M.I.; Kolb, P.; Castro, M.; Poso, A. Structure-Based Virtual Screening for Dopamine D<sub>2</sub> Receptor Ligands as Potential Antipsychotics. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 718–729, doi:10.1002/cmdc.201500599.
104. Deboves, H.J.C.; Grabowska, U.; Rizzo, A.; Jackson, R.F.W. A New Route to Hydrophobic Amino Acids Using Copper-Promoted Reactions of Serine-Derived Organozinc Reagents. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 4284–4292, doi:10.1039/b007032g.
105. Palomo, J.M. Solid-Phase Peptide Synthesis: An Overview Focused on the Preparation of Biologically Relevant Peptides. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 32658–32672, doi:10.1039/c4ra02458c.
106. *Biosystems Cleavage, Deprotection, and Isolation of Peptides after Fmoc Synthesis*; 2018; pp. 1–12;.
107. *Peptide Synthesis and Applications*; Jensen, K.J., Tofteng Shelton, P., Pedersen, S.L., Eds.; Methods in Molecular Biology; Humana Press: Totowa, NJ, 2013; Vol. 1047; ISBN 978-1-62703-543-9.
108. Mariappan, A.; Soni, K.; Schorpp, K.; Zhao, F.; Minakar, A.; Zheng, X.; Mandad, S.; Macheleidt, I.; Ramani, A.; Kubelka, T.; et al. Inhibition of CPAP–Tubulin Interaction Prevents Proliferation of Centrosome-amplified Cancer Cells. *EMBO J.* **2019**, *38*, 1–24, doi:10.15252/embj.201899876.
109. Ivanov, A.S.; Tugusheva, N.Z.; Solov'eva, N.P.; Granik, V.G. Study of the Reactions of 3-Chloro-4-Cyanobenzo[b][1,6]Naphthyridine with Nucleophilic Reagents. *Russ. Chem. Bull.* **2002**, *51*, 2121–2128, doi:10.1023/A:1021636632164.
110. Mocarski, F. Badanie Powinowactwa Trzech Pochodnych Pirolidyno- 2,5-Dionu o Potencjalnym Działaniu Przeciwdepresyjnym Do Receptora 5-HT<sub>1A</sub>, Transportera Serotoniny SERT Oraz Receptora D<sub>2</sub> Metodą Modelowania Molekularnego., Warszawski Uniwersytet Medyczny, 2012.

.....  
(podpis wnioskodawcy)